Vol. 1 DEZEMBRO - 1958 N.º 2

REVISTA
DO
INSTITUTO DE ANTIBIÓTICOS

MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO E CULTURA
UNIVERSIDADE DO RECIFE
ESCOLA SUPERIOR DE QUÍMICA
INSTITUTO DE ANTIBIÓTICOS

NSP
RAM

Rev. Inst. Antib. Univ. Recife

PERNAMBUCO — BRASIL

COMMONWEALTH MYCOLOGICAL
4 - SEP 1959

Instituto de Antibióticos da Universidade do Recife

Fundado em 8 de março de 1952

REITOR DA UNIVERSIDADE DO RECIFE

PROF. DR. JOAQUIM IGNACIO DE ALMEIDA AMAZONAS

DIRETOR DO INSTITUTO DE ANTIBIÓTICOS

PROF. DR. OSWALDO GONÇALVES DE LIMA

PESQUISADORES:

BENTO MAGALHÃES NETO

EVANS DE AZEVÊDO E SILVA

FRANCISCO DÉCIO DE ANDRADE LYRA

GESSÉ MEDEIROS MACIEL

IVAN LEÔNCIO D'ALBUQUERQUE

JOSÉ OTAMAR FALCÃO DE MORAIS

JOSÉ SIDNEY DE BARROS COELHO

KARLINE PINTO

MARIA CÉLIA PINTO NAVARRO

MARIA DO CARMO MESQUITA

MARIA EMILIA SOUTO MAIOR GENN

MARIA HELENA DÁLIA MAIA

MARISA MACHADO DE ALBUQUERQUE

COMISSÃO DE REDAÇÃO

OSWALDO GONÇALVES DE LIMA
JOSÉ OTAMAR FALCÃO DE MORAIS
MARIA HELENA DÁLIA MAIA

ENDERÊÇO: CIDADE UNIVERSITÁRIA

Engenho do Meio

RECIFE — BRASIL

Vol. 1 DEZEMBRO - 1958 N.º 2

REVISTA

DO

INSTITUTO DE ANTIBIÓTICOS

MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO E CULTURA
UNIVERSIDADE DO RECIFE
ESCOLA SUPERIOR DE QUÍMICA
INSTITUTO DE ANTIBIÓTICOS

Rev. Inst. Antib. Univ. Recife

PERNAMBUCO – BRASIL

Digitized by the Internet Archive
in 2025

https://archive.org/details/revista-do-instituto-de-antibioticos_1958-12_1_2

UM ESTUDO TAXONÔMICO EM TÔRNO DO *STREPTOMYCES LAVENDULÆ*. — *S. LAVENDULÆ* VAR. *BRASILICUS* NOV. VAR.

José Otamar Falcão de Morais
Maria Helena Dália Maia
Maria Emília Souto Maior Genn

(Do Instituto de Antibióticos da Universidade do Recife)
(Recebido para publicação a 28 de novembro de 1958)

INTRODUÇÃO

Ao estudar a cêpa 7K1, produtora do antibiótico eurimicina (GONÇALVES DE LIMA e COL., 1954a, b), notáramos a impraticabilidade de distinguir culturas-tipo dos *Streptomyces lavendulæ, virginiæ e cinnamonensis* (GONÇALVES DE LIMA e COL., 1956); por outro lado estudando a cêpa K7 — uma variante, também produtora de eurimicina e pertencente à mesma espécie da $7K_1$ — e comparando-a com representantes das espécies *S. lavendulæ*, *S. virginiæ*, *S. griseocarneus*, *S. cinnamonensis* e *S. venezuelæ* SANCHEZ-MARROQUIN (México, 1956; comunicação pessoal) concluia ser *S. virginiæ* mera forma fisiológica de *S. lavendulæ* e chamava a atenção para a necessidade de um estudo mais acurado das relações taxonômicas do grupo *lavendulæ*.

As descrições das espécies do grupo do *Streptomyces lavendulæ* ressentem-se, o que é mesmo a regra geral — de algumas das falhas apontadas por HESSELTINE e COL., (1954).

Sendo de épocas diversas, naturalmente não contêm referências a meios de cultura idênticos, foram feitas obedecendo a padrões de trabalho diferentes; nas mais anti-

gas, como a do *S. lavendulæ*, não há nenhum dado a respeito da utilização de carbono, por exemplo. Entre as descrições mais recentes, como as do *S. virginiæ* e do *S. cinnamonensis*, os dados são em número bem maior; entretanto, nem sempre são significativos (modo de crescimento em meios líquidos, tipo de ramificação do micélio vegetativo) e alguns são supérfluos, como utilização positiva de manose, glicerol, glicose, maltose e amido, pois os *Streptomyces*, pràticamente sem exceção, utilizam muito bem êsses compostos.

Freqüentemente, isolamos de solo *Streptomyces* que em agar-Czapek apresentam micélio aéreo lavanda (róseo-arroxeado), canela-avermelhado ou róseo; e reverso incolor, sem produzirem pigmento solúvel. Nos meios orgânicos êsses isolados na maioria das vêzes produzem pigmento marrom difusível. São por vêzes antagonistas, chegando algumas culturas a produzir antibióticos em meios líquidos; outras vêzes são inativos.

Nas tentativas de identificar êsses isolados chegamos, não raro, a um impasse: como chamá-los? *S. virginiæ*, *S. cinnamonensis* ou *S. lavendulæ*? Alguns se distinguem dessas três espécies (considerando sempre as descrições do Manual de BERGEY (1957) ou do livro de WAKSMAN & LECHEVALIER (1953) e também comparando com culturas-tipo), mas, apesar de sua ocorrência freqüente nos nossos solos, não se ajustam bem à descrição de nenhuma espécie conhecida de *Streptomyces*.

Tentando, em particular esclarecer essas questões relativas à taxonomia do grupo do *Streptomyces lavendulæ* e, de um modo geral, trazer alguma contribuição positiva aos métodos de estudo do gênero *Streptomyces*, foi que empreendemos êste trabalho.

MATERIAIS E MÉTODOS

HESSELTINE e COL. (*op. cit.*) aconselham, em linhas gerais, para diferenciação de espécies no gênero *Streptomyces*: (1) coleta de um considerável número de amostras provenientes de diversas fontes, o mais distanciadas geogràficamente possível, selecionadas à base da pigmentação do micélio aéreo das culturas esporuladas; (2) estudo da morfologia sôbre alguns meios ótimos para induzir produção de micélio aéreo e esporos; (3) determinação da côr dos esporos sôbre substratos ótimos; (4) estudo exaustivo das características culturais sôbre meios selecionados; (5) idem das características fisiológicas; e (6) após cuidadosa

pesquisa bibliográfica, estrita obediência às regras de nomenclatura, depósito de culturas-tipo no mínimo em duas coleções acreditadas e preservação das culturas por processos recomendados (liofilização, meio de terra, etc.). (O item 6 se aplica ao caso de criação de espécies novas).

Já havíamos dado início a êste trabalho quando o artigo de HESELTINE e Col. nos chegou às mãos. Por acaso estávamos seguindo um método aproximado do daqueles autores — pelo menos na maneira de começar o estudo — e procurámos, daí por diante, adaptar sempre que possível, os nossos métodos àquêles citados acima.

Cêpas — Selecionámos entre as culturas da coleção do Instituto de Antibióticos da Universidade do Recife (IAUR) e as isoladas em nosso trabalho de pesquisa de antibióticos, — de solos não sòmente do Estado de Pernambuco como de outras regiões do Brasil, — as cêpas que interessavam aos objetivos dêste trabalho. Isto é, as culturas catalogadas como *S. lavendulæ*, *S. cinnamonensis* e *S. virginiæ* e mais tôdas as amostras disponíveis que se aproximavam daquelas características mencionadas no início: micélio aéreo lavanda, canela-avermelhado, ou róseo; reverso incolor em agar-Czapek; pigmento solúvel ausente em meios sintéticos e marrom ou ausente em meios orgânicos. Acrescentámos, além disso, para efeito de objetivar as diferenças de comportamento, representantes das espécies *venezuelæ*, *griseocarneus*, *roseochromogenes* e *cinnamoneus*.

Estas espécies foram incluidas por apresentarem alguns caracteres comuns à espécie *lavendulæ*, as duas primeiras sendo mesmo consideradas do grupo *lavendulæ*. As cêpas são catalogadas no quadro I.

QUADRO 1

Relação das amostras estudadas

N.º	Amostra	Observação *
1	*S. lavendulæ*	ATCC 8664
2	*S. lavendulæ*	NRRL B 1230
3	*S. lavendulæ*	IAUR 663
4	*S. lavendulæ* (K7)	IAUR 652
5	*S. lavendulæ* ($7K_1$)	IAUR 653
6	*S. cinnamonensis*	ATCC 12308
7	*S. cinnamonensis* (A20)	IAUR 706

N.º	Amostra	Observação *
8	*S. virginiæ*	ATCC 12630
9	FC 270	Olinda — PE
10	FC 273	" "
11	284	Prazeres — PE
12	A 90	i
13	A 14	Aldeia — PE
14	A 49	Fazenda Boqueirão — PE
15	FC 272	Olinda — PE
16	2 M	i
17	FC 276	Olinda — PE
18	FC 1	" "
19	612	Abreu e Lima — PE
20	634	Tambaú — PB
21	675	Águas de Lindóia — SP
22	35Sh3	i
23	SJ 52	Palmares — PE
24	FC 275	Olinda — PE
25	36 HCK	" "
26	287	Prazeres — PE
27	DI 15	Recife — PE
28	506	Pau-Ferro — PE
29	731	Santana d'Ipanema — AL
30	286	Prazeres — PE
31	FC 277	Olinda — PE
32	FC 2	" "
33	FC 269	" "
34	FC 289	" "
35	FC 290	" "
36	A 5	Paulista — PE
37	*S. venezuelæ*	ATCC 10595
38	B 9	i
39	629	Tambaú — PB
40	285	Prazeres — PE
41	Mb2	Recife — PE
42	FC 274	Olinda — PE
43	288	Bezerros — PE
44	*S. roseochromogenes*	ATCC 3347
45	*S. griseocarneus*	ATCC 12628
46	*S. cinnamoneus*	ATCC 11874

* As localidades indicam a origem do solo de onde se isolou a cêpa. PE — Pernambuco; PB — Paraíba; SP — S. Paulo; AL — Alagoas; i — local ignorado.

Para estudo da côr do micélio aéreo (da massa de esporos), da côr do desenvolvimento vegetativo e da produção de pigmentos, usámos os seguintes meios de cultura: agar-extrato de malte-extrato de levedura (meio L) (PRIDHAM e COL., 1957), agar-Czapek, agar-malato de cálcio, agar-nutritivo, agar-amido (também usado para verificar hidrólise) e batata (pedaço em forma de cunha). Para observar a ação sôbre gelatina e leite usámos gelatina-peptona e leite-tornassolado.

Para estudar o comportamento dos *Streptomyces* em relação à celulose utilizámos a solução de Czapek menos sacarose, com fitas de papel de filtro. As leituras foram feitas após 7, 14 e 28 dias de cultivo. Para gelatina e leite levámos as observações até 50 dias.

A ação amilolítica foi verificada fazendo-se estrias em placas de Petri com alça de 1 cm e revelando-se o halo lateral de hidrólise com solução de Lugol. As placas foram incubadas a 28-30º C e as leituras anotadas após 5 e 10 dias.

A redução de nitrato a nitrito foi pesquisada em dois meios: amido-nitrato e indol-nitrito BBL, a reação para nitrito sendo realizada após 48 h de cultivo a 28-30º C.

As provas de utilização de compostos de carbono foram realizadas no meio de PRIDHAM e GOTTLIEB (1948), procedendo-se do seguinte modo: Os *Streptomyces* foram cultivados em caldo simples durante 10 dias; o desenvolvimento suspenso em água estéril (5 ml) e, após fragmentação, diluído aproximadamente a 1: 10. Esta suspensão final é usada para inocular os tubos (0.3 ml por tubo) com o meio básico mais composto orgânico, a leitura sendo realizada ao 10.º dia de incubação a 28-30º C. As soluções dos compostos de carbono foram esterilizadas por tindalização (2 horas a 80º C, em estufa, 2 dias consecutivos).

Morfologia — Foi estudada fazendo-se estrias em placas de Petri com agar-Czapek (8 ml por placa), observando-se as colônias diretamente ao microscópio (entre o 3.º e o 10.º dias).

Para observar a forma dos conídios fizemos um esfregaço de micélio aéreo (desenvolvido no meio L ou em agar-Czapek), fixamos e coramos pelo método de Gram. O líquido usado para suspensão foi obtido juntando-se água destilada a um tubo de agar nutritivo estéril e fragmentando-se o meio.

Propriedades antagonistas — As culturas foram submetidas a provas de estrias cruzadas em agar-nutritivo, utilizando-se apenas uma cêpa representante das seguintes

espécies: *S. aureus*; *B. subtilis*; *E. coli*; *Ps. aeruginosa*; *P. morganii*; *Myc. smegmatis*; *Myc. phlei*; *Myc. tub. var. hominis* (cêpa IAUR 69, originária da Escuela Nacional de Ciências Biológicas, México); *N. asteroides* e *C. albicans*. Os *Streptomyces* foram incubados a 28-30º C 3 dias; e os organismos a testar 2 dias a 37º C.

COMPOSIÇÃO DE ALGUNS MEIOS EMPREGADOS

Agar-extrato de levedura-extrato de malte (Meio L): Extrato de levedura. 4.0g; extrato de malte, 10.0g; glicose, 4,0g; agar, 18.0g; água destilada, 1000 ml. pH não ajustado.

Agar-malato de cálcio —
Malato de cálcio, 10,0g; $ClNH_4$, 0.5g; PO_4HK_2, 5.0g; agar, 18.0g; água destilada, 1000 ml; pH 7.0.

Solução de amido-nitrato — (Para redução de nitrato a nitrito) — Amido solúvel, 20.0g; PO_4HK_2, 1.0g; $SO_4Mg.7H_2O$, 0.5g; ClK, 0.5g; NO_3Na, 2.0g; CO_3Ca, 2.0; água destilada, 1000 ml.

Amido-agar (Para hidrólise de amido) — Solução anterior, adicionada de 20.0g de agar.

Pridham-Gottlieb (Meio básico para as provas de utilização de compostos de carbono) — $SO_4(NH_4)_2$, 2.74 g; PO_4H_2K, 2,38; PO_4HK_2, 5.65g; $SO_4Mg.7H_2O$, 1.0g; $SO_4Cu.7H_2O$, 0.0064g; $Cl_2Mn.4H_2O$, 0.0079g; $SO_4Zn.7H_2O$, 0.0015g; $SO_4Fe.7H_2O$, 0.0011g; agar, 18g; água destilada, 1000 ml.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

I) TAXONOMIA

Partindo com 46 culturas tivemos logo êsse número reduzido a 39. Isto porque as de *S. cinnamoneus*, *S. roseochromogenes* e *S. griseocarneus* se revelaram, no conjunto dos caracteres, bastante diferentes da grande maioria das componentes do grupo em análise; além disso, outras quatro, a saber, 285, 288, Mb2 e FC274 puderam desde cedo ser caracterizadas como do grupo *fradiæ-roseoflavus;* de relação com *S. lavendulæ* têm apenas a coloração rósea do micélio aéreo.

Das 39 culturas restantes, 23 podem ser consideradas, sem qualquer dúvida, como *S. lavendulæ;* têm comportamento bastante homogêneo quanto à utilização de carbono e, afora uma ou outra discrepância, são bastante semelhantes quando desenvolvidas nos vários meios de cultivo.

Com respeito aos meios de gelatina e leite, há algu-

QUADRO 2

Comparação entre as descrições dos *Streptomyces virginiæ* e *cinnamonensis* (Bergey's Manual of Determinative Bacteriology — Seventh Edition)

	S. virginiæ Grundy **et al.**, 1952	**S. cinnamonensis** Okami **et al.**, 1952
Vegetative growth	Cream-colored to light brown on complex media; soluble, light brown, diffusible pigment. On synthetic media white to cream-colored growth with pink or grayish lavender aereal mycelium. Undulating mycelium about 1 micron in diameter with short, thinner side branches.	Fine branching mycelium.
Aereal mycelium	Long, grayish pink or lavender aereal hyphae. Most of the sporulating hyphae straight, occasionally a spiral is observed at or near the tip of the hypha. Spirals vary from tightly closed knots to loose, open spirals. Spores cylindrical, 0.75 to 1.0 by 1.1 to 1.5 microns.	0.8 to 1.2 microns in diameter; long filamentous mycelium no spirals. Spores ellipsoidal.
Nutrient agar	Sparse, white growth, turning cream-colored. White aereal mycelium, turning light grayish lavender when sporulation occurs. No soluble pigment.	Colorless to dark growth. No aereal mycelium. Soluble, slightly brown pigment may be produced.
Potato	Abundant, spreading, brownish growth. Aereal mycelium grayish lavender. Browning of potato.	Light cream-to dark-colored growth. No aereal mycelium. No soluble pigment, later black pigment produced around growth.
Gelatin	Gray to brown surface pellicle. Aereal mycelium thin, white. Soluble brown pigment extending as far as liquefied zone. Slow liquefaction.	Colorless to dark brownish growth. Aereal mycelium in form of white patches. Soluble brown pigment. No liquefaction or very slow liquefaction.
Milk	Brown growth. Milk becomes dark gray-brown or black. Not coagulated; slowly perptonized.	Cream-colored to brownish surface ring. No aereal mycelium or scant, white. No soluble pigment or slightly brown. Not coagulated; may be very slowly peptonized.
Starch agar	Thin colorless growth with aereal mycelium rose-to lavender-colored. Starch is hydrolized.	Colorless, spreading growth. Aereal mycelium white whit pinkish tinge. No soluble pigment. Starch is actively hidrolized.
Nitrate	Nitrites weakly produced, if at all, from nitrates.	Nitrites not produced from nitrates.
Glucose asparagine agar	Sparse, cream-colored growth. No aereal mycelium. No sporulation. No pigmentation.	Colorless to light crem-colored growth. White to white-pinkish-cinnamon aereal mycelium with light brownish-vinaceous tinge. No soluble pigment.
Antagonistic properties	Produces actithiazic acid.	Produces an antibiotic which is active against mycobacteria and which is identical with actithiazic acid or thiozolidone.
Carbon sources	Glucose, mannose, galactose, maltose, starch, glycerol, sodium acetate and sodium citrate are utilized. Xylose, lactose, sucrose, mannitol, sorbitol and potassium sodium tartrate are not utilized.	Sucrose, mannose, dextrin, galactose, glycerol, fructose, glucose, maltose, mannitol, xylose and sodium succinate are utilized as carbon sources. Arabinose, esculin, rhamnose, dulcitol, sodium acetate, inulin and lactose are not utilized as carbon sources. Salicin and raffinose are negative.

mas variações. Não há muita homogeneidade na liquefação de gelatina, na peptonização de leite, como na produção de pigmento marrom nos dois casos.

Morfològicamente essas 23 culturas compreendem três tipos. O primeiro se caracteriza por hifas aéreas retas (tipo 1) *. Ocorrem hifas retas e longas (subtipo 1a) e retas e curtas, fragmentadas (subtipo 1b). O subtipo 1a é mais comum entre isolados recentes; o 1b predomina entre as culturas velhas, conservadas em meios comuns. O segundo tipo (tipo 2) distingue-se do primeiro sòmente por apresentar algumas hifas com extremidades recurvadas, formando cajados ou mesmo espirais com apenas uma ou duas circunvoluções. Finalmente o último tipo (tipo 3), menos freqüente, se caracteriza pela presença de hifas espiraladas típicas. Apenas as cêpas 35Sh3 e SJ52 são deste tipo.

A cêpa ATCC 12630 de *S. virginiæ* não é, de modo algum, diferente de *S. lavendulæ* e como tal deve ser considerada. Além disso a descrição da espécie *virginiæ*, dada por Grundy *et al.*, serve também para a espécie *S. lavendulæ*. Não vemos razão para que se continue aceitando como válida a espécie *S. virginiæ*.

S. cinnamonensis ATCC 12308 também é *lavendulæ* típico, o mesmo acontecendo com a cêpa A20, classificada por nós como *cinnamonensis* (FALCÃO DE MORAIS e COL., 1956) e posteriormente considerada por SANCHEZ-MARROQUIN (1957) como *S. lavendulæ*. Êste fato ilustra bem como a descrição de OKAMI e COL. (in Bergey's Manual, 1957) para a espécie *S. cinnamonensis* enquadra a espécie *lavendulæ*. Estamos convencidos de que *S.cinnamonensis* e *S. virginiæ* são uma só espécie, ambas as denominações devendo ser consideradas como sinônimas de *S. lavendulæ*.

No quadro 2 apresentamos lado a lado as descrições daquelas duas primeiras espécies no seu conteúdo principal, para que o leitor possa mais fàcilmente julgar a nossa opinião.

Seis outras culturas (DI15, 36HCK, FC275, 287, 506 e 731) se distinguem das 23 anteriores (*S. lavendulæ*) pelo seguinte:

1) Micélio aéreo canela-avermelhado bem característico (principalmente no meio L);

---

* Nossos tipos 1, 2 e 3 correspondem respectivamente, aos tipos 2, 5 e 4 de HESSELTINE **et al.** (**op. cit.**).

2) Não utilização de salicina como fonte de carbono.

Morfològicamente pertencem ao tipo 2, antes referido. Quatro dessas cêpas foram isoladas de solo de locais bastante distanciados e as duas restantes, que provêm de terras do mesmo sítio, foram isoladas de amostras diferentes, colhidas em épocas diversas. Têm, entretanto, um comportamento absolutamente idêntico, em todos os aspectos.

Não achamos que as diferenças apresentadas por essas seis culturas em relação ao conjunto classificado como *S. lavendulæ* sejam bastante marcadas para justificarem uma outra espécie.

Trata-se de uma variedade fisiológica da espécie *lavendulæ*, de características muito constantes.

Damos a êsse grupo a denominação de *Streptomyces lavendulæ* var. *brasilicus* Nov. Var.

Um outro grupo homogêneo quanto à utilização de carbono, redução de nitrato a nitrito, hidrólise de amido e na aparência sôbre alguns meios de cultivo, é constituido pelas amostras: A5, 286, FC2, FC277, FC289, FC290 e *S. venezuelæ* ATCC 10595.

Tôdas apresentam um micélio aéreo róseo a ocre-acinzentado nos meios mais propícios para esporulação; utilizam lactose, ramnose, xilose e arabinose; crescem num meio com celulose como única fonte de carbono. Essas qualidades distinguem êste grupo dos grupos anteriores.

Sob alguns aspectos a cêpa *S. venezuelæ* ATCC 10595 distingue-se das demais. Por exemplo: produz pigmento solúvel marrom escuro em meios orgânicos como leite, gelatina, Dorset, agar-nutritivo e glicose-agar; mostra atividade antagonista contra Gram-negativos (*E. coli* e *K. pneumoniæ*). Por outro lado a descrição do *Streptomyces venezuelæ* afasta também, em certo grau, esta espécie das culturas que compõem o grupo em análise.

Talvez nos encontremos diante de uma espécie de *Streptomyces* ainda não descrita. Como, além dessas 7 culturas já dispomos de algumas outras, com mesmas características, isoladas enquanto compúnhamos êste artigo, resolvemos realizar uma investigação mais detida sôbre o assunto.

A cêpa 629 parece pertencer à espécie *S. erythrochromogenes*. Confunde-se com *S. lavendulæ* na côr do micélio aéreo e na utilização de carbono; distingue-se por apresentar um crescimento vegetativo róseo em vários meios, produzindo em alguns casos (em glicose-agar, por exemplo) pigmento solúvel vermelho.

Finalmente a cêpa B9 distingue-se da espécie *S. lavendulæ* nos seguintes pontos:

1) Desenvolvimento vegetativo marrom-claro, e não incolor, em alguns meios sintéticos, como amido-agar e malato de cálcio-agar, produzindo, além disso, pigmento solúvel marrom;

2) Micélio aéreo vermelho-canela a marrom-claro e não lavanda.

Neste último aspecto, como também por não utilizar salicina, a cultura B9 coincide com *S. lavendulæ* var. *brasilicus*, distinguindo-se, porém, na côr do desenvolvimento vegetativo. Pode tratar-se de uma nova espécie ou simplesmente de uma variedade cromogênica em meios sintéticos, do *S. lavendulæ*.

DESCRIÇÃO AMPLIADA DA ESPÉCIE *S. LAVENDULÆ*

Com base nas observações de 23 culturas oferecemos uma descrição da espécie *S. lavendulæ* que julgamos atender ao objetivo fundamental dêste trabalho: determinar com rigor os limites de variação das características principais da espécie, evitando, assim, considerar-se espécie diferente a simples variantes ou formas fisiológicas de *S. lavendulæ*.

Essa descrição é a seguinte:

Morfologia-Heterogênea. Observam-se três tipos micromorfológicos.

1.°: Hifas aéreas longas, não apresentando espirais; podem as culturas dêste tipo, depois de subseqüentes repicagens, variar, passando a produzir hifas curtas, mais delgadas e fragmentadas.

2.°: Difere do anterior apenas pela ocorrência de hifas recurvadas na extremidade, formando cajados ou mesmo espirais primitivas.

3.°: Compreende as culturas que apresentam hifas predominantemente espiraladas. Apenas 2 das 23 cêpas estudadas pertencem a êste tipo.

Agar-extrato de levedura-malte * — Micélio aéreo cinza-marrom-arroxeado (5A7 a 5B7 do "Dictionary of Color", de Maerz & Paul, segunda edição, 1950). Reverso cas-

* Extrato de levedura, 4.0 g; extrato de malte, 10.0 g; glicose, 4.0 g; Água destilada, 1000 ml. pH 7.3.

tanho-amarelado a marrom-claro. Pigmento solúvel marrom pouco intenso ou ausente.

Agar-Czapek — Micélio aéreo róseo-arroxeado a branco-cinza claro (é comum um esmaecimento da coloração rósea-arroxeada após transplantes sucessivos). Reverso incolor. Pigmento solúvel não produzido.

Agar-nutritivo — Desenvolvimento creme a marrom-claro. Micélio aéreo em geral ausente (algumas amostras, principalmente recém-isoladas, podem dar um pouco de micélio aéreo branco, raso). Pigmento solúvel marrom ou ausente.

Leite — O desenvolvimento pode ser incolor, creme, marrom-castanho ou marrom-escuro. Micélio aéreo quase sempre ausente, podendo, entretanto, ocorrer cinza-branco ou mesmo lavanda. Coagulação variável. Alcalinização (o pH aos 28 dias quase sempre está entre 7.5 e 7.8). Peptonização: regra geral ocorre, podendo ser total entre 14 e 28 dias. Algumas amostras exigem para isso 40 dias ou mais. Pigmento solúvel marrom, raras vêzes não formado.

Agar-malato de cálcio — Micélio aéreo branco-cinza, às vêzes róseo.
Algumas culturas não esporulam. Pigmento solúvel não produzido. Reverso incolor ou levemente amarelado *.

Gelatina — Desenvolvimento marrom a creme-claro. Micélio aéreo geralmente ausente, podendo ocorrer branco, cinza-claro, ou cinza-arroxeado. Pigmento: marrom-claro, marrom-escuro, alaranjado ou ausente. Liquefação: geralmente é total aos 28 dias; ocorrem cêpas que atingem êsse ponto aos 14 dias; são raras aquelas que necessitam de mais de 28 dias para uma liquefação total.

Batata — Desenvolvimento castanho com tonalidades que variam entre o creme-claro e o marrom. Micélio aéreo geralmente não formado; algumas amostras apresen-

* As cêpas ATCC 8664, 35Sh3 e SJ52 produzem neste meio colônias com reverso azul; no meio básico de Pridham e Gottlieb com citrato ou maltose, além dessas 3 culturas A90 também dá colônias de reverso azul. (Ver WAKSMAN & LECHEVALIER, **op. cit.** pg. 22).

tam uma película cinza recobrindo o desenvolvimento. Pigmento solúvel castanho, às vêzes ausente.

Celulose — não atacada; nenhum desenvolvimento.

Nitrato — Redução de intensidade variável, raramente negativa.

Hidrólise de amido — Positiva fraca; poucas amostras podem ser consideradas de boa atividade amilolítica.

Capacidade antagonista — Em geral boa atividade contra Gram-positivos e *Mycobacteria*; menor contra Gram-negativos; fraca, ou nula, contra *Nocardia asteroides* e *Candida albicans*.
Algumas culturas são produtoras de antibióticos (Estreptotricina ou substâncias relacionadas).

Fontes de carbono — A espécie caracteriza-se pelo seguinte esquema de utilização de carbono:

Ramnose	—	
Lactose	—	
Xilose	—	*
Arabinose	—	*
Frutose	—	*
Sacarose	—	*
Rafinose	—	
Manitol	—	
Citrato de sódio	V (+)	
Salicina	+	*

Pode-se acrescentar, a título de informação, que melezitose, adonitol, inulina e inositol não são utilizados; e que melibiose dá resultados variáveis, sendo mais comuns as culturas que a não utilizam.

\+ A fonte de carbono é utilizada;
— A fonte de carbono não é utilizada;
V (+) Utilização variável, predominando os resultados positivos;
* Raras amostras podem divergir.

Streptomyces lavendulæ var. *brasilicus* Nov. Var.. — Esta variedade caracteriza-se pelas seguintes diferenças em relação ao *Streptomyces lavendulæ* típico:

1) Micélio aéreo marrom-arroxeado (5G7 do "Dictionary of Color" de Maerz & Paul, 2.ª Ed., 1950), principalmente em extrato de levedura-extrato de malte-agar (meio L); nos meios sintéticos como agar-Czapek e agar-malato de cálcio êle é róseo-avermelhado ou canela-claro, nunca apresentando o tom lavanda do *S. lavendulæ*;

2) Não utilização de salicina como fonte de carbono.

II) OUTROS RESULTADOS

Redução de nitrato a nitrito e hidrólise de amido — Para as provas de redução de nitrato a nitrito resultou claro que o meio sintético com amido como fonte de carbono é mais adequado que o "indol-nitrite" BBL. No quadro 3 o leitor encontrará alguns resultados das provas em epígrafe. É de notar como as culturas relacionadas com *S. venezuelæ* além de hidrolisarem amido com certa homogeneidade são boas redutoras de nitrato a nitrito, mesmo no meio complexo.

Forma dos conídios — Nossas observações nesse sentido não chegaram a ter valor diagnóstico. Talvez isto se deva ao método empregado. Notamos serem raras as culturas que não apresentam conídios cilíndricos, ao lado de ovais e globosos.

Pelo método de impressão, de Drechsler, podemos verificar que geralmente os conídios são globosos ou ovais nas extremidades das cadeias, assumindo a forma cilíndrica à medida que se aproximam da hifa suporte.

Capacidade antagonista — Por alguns resultados expostos no quadro 4 ter-se-á uma idéia bem aproximada das provas efetuadas; os diversos grupos estão ali bem representados.

Utilização de carbono — Esta prova confirmou, mais uma vez a sua grande utilidade na taxonomia do gênero *Streptomyces*. As culturas de micélio aéreo róseo-claro, relacionadas com *S. venezuelæ*, por exemplo, se distinguem claramente das que pertencem à espécie *S. lavendulæ* pela utilização positiva de xilose, arabinose, ramnose e lactose. No quadro 5 o leitor encontrará todos os resultados desta prova.

RESUMO E CONCLUSÕES

Os AA. recolheram 46 culturas de *Streptomyces* que

QUADRO 3

Redução de nitrato a nitrito e hidrólise de amido pelos *Streptomyces* estudados (Resultados representativos)

Amostra	Hidrólise de amido (mm)		Red. de nitrato a nitrito	
	5 dias	10 dias	Amido-nitrato	"Indol-nitrite" BBL
S. lavend. ATCC 8664	2	5	—	—
S. lavend. NRRL B1230	0	3	* * *	—
S. lavendulæ (7K1)	0	1	*	—
S. cinnam. ATCC 12308	0	1	* *	—
S. virginiæ ATCC 12630	1	1	* * *	—
FC273	0	0	*	—
284	0	2	* * * *	*
A90	0	1	*	* * * *
SJ52	2.5	5	*	—
36HCK	1	1	*	—
Di15	1	1	* * *	—
731	0	1	—	—
286	3	4	* * * *	* * * *
FC269	2	3	* * * *	* * * *
A5	1	1	* * * *	* * * *
S. venez. ATCC 10595	2	2.5	* * * *	* * * *
629	0	1	* * *	* * *
B9	0	2.5	* * *	*
Mb2	8	13	* * * *	* * * *
S. roseoch. ATCC 3347	6.5	10	* * * *	—

QUADRO 4

Resultados representativos da atividade antagonista dos *Streptomyces* estudados
(Estrias cruzadas em agar-nutritivo)

AMOSTRA	S. aureus	B. subtilis	E. coli	Ps. aeruginosa	K. pneumoniæ	P. morganii	M. smegmatis	M. phlei	M. tub. var. hom.	N. asteroides	C. albicans
S. lavend. ATCC 8664	**	**	**	*	**	**	**	—	—	—	—
S. lavend. (K7)	*	*	*	*	*	*	*	—	—	*	—
S. cinnam. ATCC 12308	**	**	*	—	*	*	*	—	—	—	—
S. virg. ATCC 12630	*	*	*	—	*	*	*	—	—	—	—
A90	**	*	*	—	—	—	—	*	—	—	—
FC276	**	**	**	*	**	**	**	—	—	*	*
FC1	—	—	—	—	—	—	*	**	**	**	**
35Sh3	**	**	**	*	**	**	**	*	—	—	*
Di15	**	**	**	*	**	**	**	—	—	—	—
731	**	**	—	—	—	—	*	*	*	*	*
FC277	—	*	—	—	—	—	—	**	**	**	**
A5	*	*	—	—	—	—	—	—	—	—	—
S. venez. ATCC 10595	—	*	*	—	*	—	—	**	**	—	*
629	*	*	—	—	—	—	—	**	**	—	—
B9	—	—	—	—	—	—	*	*	**	*	*
Mb2	**	**	**	*	**	**	**	—	—	—	—
288	—	—	—	—	—	—	—	**	**	*	*
S. roseochr. ATCC 3347	*	*	—	—	—	—	—	*	*	*	*

—: Nenhuma ação; *: Halo até 20 mm; **: Halo superior a 20 mm.

QUADRO 5

Utilização de carbono pelos *Streptomyce*

AMOSTRA	l-ramnose	melezitose	adonitol	manitol	rafinose	lactose	sacarose	inulina	i-inositol	d-xilose
S. lavend. ATCC 8664	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
S. lavand. NRRL B1230	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
S. lavend. IAUR 663	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
S. lavend. K7	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
S. lavend. 7K1	—	⊖	—	—	—	—	⊖	—	—	—
S. cinnam. ATCC 12308	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
S. cinnam. A20	—	—	—	—	—	⊖	—	—	—	—
S. virginiæ ATCC 12630	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖
FC270	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖
FC273	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖
284	⊖	⊖	⊖	—	⊖	⊖	⊖	—	⊖	⊖
A90	⊖	—	—	△	—	⊖	⊖	—	—	△
A14	⊖	⊖	—	⊖	—	—	⊖	—	—	⊖
A49	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	—	⊖	⊖
FC272	⊖	⊖	⊖	—	⊖	—	⊖	—	⊖	⊖
2M	⊖	⊖	—	⊖	—	⊖	⊖	⊖	—	⊖
FC276	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖
FC1	⊖	⊖	—	⊖	⊖	⊖	△	⊖	⊖	△
612	—	—	—	—	⊖	—	—	—	—	—
634	—	—	—	⊖	⊖	—	⊖	—	—	△
675	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	△	⊖	⊖	⊖
35Sh3	—	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	—
SJ52	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
FC275	—	—	⊖	—	—	—	—	—	—	—
36HCK	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
287	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Di15	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
506	⊖	—	⊖	—	—	—	△	—	—	—
731	—	—	—	—	⊖	—	⊖	—	—	—
286	—	—	—	—	—	△	—	—	—	△
FC277	△	⊖	—	⊖	⊖	+	⊖	—	—	+
FC2	+	⊖	—	△	—	△	⊖	⊖	—	+
FC269	+	—	—	—	⊖	△	⊖	⊖	—	+
FC289	+	⊖	—	⊖	⊖	+	⊖	⊖	—	+
FC290	+	⊖	—	⊖	⊖	△	⊖	⊖	⊖	+
A5	+	⊖	—	⊖	⊖	△	⊖	⊖	—	+
S. venez. ATT 10595	+	⊖	—	⊖	⊖	△	⊖	⊖	⊖	+
B9	—	⊖	—	—	—	—	⊖	—	—	⊖
629	—	—	—	—	⊖	—	⊖	⊖	—	⊖
285	—	—	—	—	—	—	⊖	—	—	+
Mb2	—	—	—	—	—	—	⊖	—	—	△
FC274	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	—	△
288	△	⊖	—	⊖	—	△	⊖	⊖	—	△
S. roseochr. ATCC 3347	—	—	—	+	—	△	—	—	—	△
S. griseoc. ATT 12628	—	—	—	—	—	—	—	—	+	—
S. cinnam. ATCC 11874	⊖	—	⊖	—	—	—	—	⊖	△	⊖

+ : Bom crescimento, utilização positiva;
△ : Crescimento moderado, utilização positiva;
⊖ : Crescimento muito fraco, provàvelmente nenhuma utilização;
— : Nenhum crescimento.

tinham de comum a coloração lavanda, rósea-avermelhada ou rósea-clara do micélio aéreo, além disso apresentando um desenvolvimento vegetativo — a uma observação superficial — incolor em meios sintéticos, sendo incapazes de produzir pigmento solúvel em agar-Czapek.

Entre essas culturas algumas eram catalogadas como *S. lavendulæ* (5), *S. cinnamonensis* (2), *S. virginiæ* (1), *S. venezuelæ* (1), *S. griseocarneus* (1), *S. roseochromogenes* (1) e *S. cinnamoneus* (1), a maioria sendo composta de cêpas não classificadas, isoladas de solos não só de Pernambuco mas também de outras regiões do Brasil.

Procurando adaptar seus métodos de trabalho àqueles aconselhados por HESSELTINE e Col. (HESSELTINE, C. W., R. G. BENEDICT, T. G. PRIDHAM. 1954. Useful criteria for species differentiation in the genus *Streptomyces*. Ann. New York Acad. Sci., *60*, 136-151.) fizeram um estudo exaustivo da morfologia, do comportamento sôbre vários meios de cultivo, da ação bioquímica — incluindo utilização de carbono —, e chegaram aos seguintes resultados principais:

1. 23 culturas são de *Streptomyces lavendulæ*; é apresentada uma descrição ampliada desta espécie, onde são considerados os limites de variação de suas principais características;

2. As duas culturas de *S. cinnamonensis* (ATCC 12308 e IAUR A20) e a de *S. virginiæ* (ATCC 12630) se comportaram em tudo como *S. lavendulæ*, e, como tal, são consideradas; outrossim, analisando as descrições daquelas duas espécies (um quadro comparativo é apresentado) os AA. concluíram que ambas se equivalem e podem mesmo ser utilizadas para definir a espécie *S. lavendulæ*.

Dêsse modo, propõem que aquelas duas espécies não continuem a ser mais consideradas como diferentes da espécie *S. lavendulæ*;

3. 6 culturas diferem das anteriores apenas na côr do micélio aéreo (é sempre róseo-avermelhado ou marrom-avermelhado, nunca lavanda) e na utilização de salicina (sempre negativa).

Foram consideradas como uma variedade da espécie anterior, a que os AA. denominaram *Streptomyces lavendulæ* var. *brasilicus* Nov. Var.;

4. 7 outras culturas estão relacionadas, em alguns aspectos, com *Streptomyces venezuelæ*, diferindo, porém, em outros.

Essas cêpas e mais algumas outras semelhantes isoladas posteriormente serão objeto de trabalho à parte.

AGRADECIMENTO

Queremos expressar nossos melhores agradecimentos ao Prof. A. Chaves Batista, diretor do Instituto de Micologia da Universidade do Recife, pela colaboração prestada ao nos proporcionar consultas aos códigos de côres e utilização do departamento de fotografias de seu Instituto; ao senhor Mauro Wanderley de Siqueira por trabalho fotográfico; e aos funcionários da secção de material e meios de cultura do IAUR, especialmente aos senhores José Lacerda L. Duarte e Albérico Nascimento Reis, pela eficiente ajuda.

SUMMARY

The Authors collected 46 *Streptomyces* cultures having as common characteristics the aereal mycelium coloration (lavender, red-pink or slightly pink). Aside this, under a brief observation the cultures showed a vegetative mycelium (reverse) colorless on synthetic media, being unable to yield soluble pigments on Czapek's agar.

Among these cultures some of them were labeled as *S. lavendulæ* (5), *S. cinnamonensis* (2), *S. virginiæ* (1), *S. griseocarneus* (1), *S. roseochromogenes* (1) and *S. cinnamoneus* (1) but some others were unclassified, and isolated from Pernambuco or from soils of other different Brazilian regions.

The Authors adapting the Hesseltine, Benedict and Pridham research methods (Hesseltine, C. W., R. G. Benedict & T. G. Pridham. 1954: Useful criteria for species differentiation in the genus *Streptomyces*. Ann. New York Acad. Sci., 60, 136-151.) made morphological and biochemical studies (included carbon utilization) as well as the comparative growth on several culture media and the following results were ascertained:

1. From 46 *Streptomyces* cultures, 23 were classified as *Streptomyces lavendulæ*. A broad description of this species is presented in which the Authors pointed out the range of variations of the main characteristics of *S. lavendulæ*.

2. The *S. cinnamonensis* cultures (ATCC 12308 & IAUR A20) and *S. virginiæ* (ATCC 12630) behave as *S. lavendulæ* so that they were so classified. The description of those

two species above mentioned were carefully analysed and the Authors concluded by their equivalence to the *S. lavendulæ* one. On account of these conclusions the Authors proposed the *S. cinnamonensis* and *S. virginiæ* must be considered as *S. lavendulæ.*

3. Six cultures were found slightly different from the others mainly the aereal mycelium coloration always red-pink or red-brown but not lavender and by negative utilization of salycin. These last ones were considered as a variety of *S. lavendulæ*: *Streptomyces lavandulæ* var. *brasilicus* Nov. Var.

4. Seven others cultures are related to *S. venezuelæ* under certain aspects. The Authors are putting forward a new experimental work to answer satisfactorily this taxonomic problem.

ZUSAMMENFASSUNG

Die Verf. sammelten 46 Kulturen von *Streptomyces*, die gemeinsan die Lawendel-Farbung oder sei es rötlich, auch rosa-rötlich und hellrosa des Luftmycels hatten. Sie zeigten auch eine farblose Unterseiteim synthetischen Mittel auf, wie sie auch unfaihig waren Pigmente im Agar Czapek zu bilden.

Unter diesen Kulturen waren einige schon klassifiziert wie als *S. lavendulæ* (5), *S. cinnamonensis* (2), *S. virginiæ* (1), *S. venezuelæ* (1), *S. venezuelæ* (1), *S. griseocarneus* (1), *S. roseochromogenes* (1) und *S. cinnamoneus* (1); die Mehrzahl der Stamme waren noch nicht klassifiziert und wurden aus Erdmustern von Pernambuco und anderen Gegenden Brasiliens isoliert.

Bei den Untersuchungen wurden jene Methoden angewandt welche von Hesseltine, Benedict und Pridham (Hesseltine, C. W., R. G. Benedict, T. G. Pridham 1954: Useful criteria for especies differentiation in the genus *Streptomyces*. Ann. New York Acad. Sci., 60, Art. 1, 136-151) empfohlen wurden und durch ein ausgedehntes morfologisches Studium, weiteres über das Verhalten auf den verschiedenen Nahrböden, über die biochemische Tatigkeit, einschliesslich der Anwendung von Kohlenstoff kamen die Verf. zu folgenden hauptsachlichsten Ergebnissen:

1). 23 Kulturen sind *Streptomyces lavandulæ* in einer ausführlichen Beschreibung wird diese Art eingehendst behandelt und wo die Variationen ihrer wichtigsten Merkmale angeführt sind.

2). Die zwei Kulturen des *S. cinnamonensis* (ATCC 12308 und IAUR A20) und die Kultur *S. virginiæ* (ATCC 12630) verhielten sich in Allem wie *S. lavendulæ*, deshalb wurden sie als solche bewertet; weiters nach genauer Analyse der Beschreibungen dieser zwei Arten(ein Vergleichsdiagramm wurde ausgeführt) folgerten die Verf. dass beide Arten unter sich equivalent sind und können sogar zur Bestimmung der Art *S. lavendulæ* benutzt werden.

Sich darauf begründend, schlagen die Verfasser vor, dass die zwei oben genannten Arten nicht mehr als verschieden von der Art *S. lavendulæ* betrachtet werden.

3). 6 Kulturen unterscheiden sich von den unter Abschnitt 1 angeführten nur durch die Farbe des Luftmycels, seine Farbe ist immer rosa-rötlich und braun-rötlich aber es hat niemals die Farbe, die als Lavendel bezeichnit wird. Desgleichen negative Anwendung von Salicin. Diese 6 Kulturen werden als eine Verschiedenheit angesehen und welche die Verf. mit *Streptomyces lavendulæ* var. *brasilicus* Nov. Var. bezeichneten.

4). 7 andere Kulturen stehen, von einigen Gesichtspunkten betrachtet nahe an *Streptomyces venezuelæ*, unterscheiden sich aber in anderer Hinsicht.

REFERÊNCIAS

BREED, R. S., E. G. D. MURRAY, N. R. SMITH. 1957. Bergey's Manual of Determinative Bacteriology, 7th Ed., Williams & Wilkins Co.

FALCÃO DE MORAIS, J. O., O. GONÇALVES DE LIMA & M. H. MAIA. 1956. **Streptomyces** A20 (IAUR), produtor de um antibiótico do grupo da estreptotricina — identificado como **S. cinnamonensis**. An. Soc. Biol. Pernambuco, **14** (1 e 2), 9-15.

GONÇALVES DE LIMA. O., L. A. ARAÚJO, J. O. FALCÃO DE MORAIS, M. PINHEIRO MACHADO & C. L. CARMONA. 1954a. Estudo sumário de um **Streptomyces** (cêpa 7K1 do IAUR). An. Soc. Biol. Pernambuco, **12** (1), 3-7.

————, L. A. ARAÚJO, J. O. FALCÃO DE MORAIS, M. PINHEIRO MACHADO, A. ANDRADE & J. W. SIQUEIRA NETO. 1954b. Estudo sôbre a eurimicina, antibiótico produzido pelo **Streptomyces** sp (cêpa 7K1 do IAUR). An. Soc. Biol. Pernambuco, **12** (1), 9-17.

————, J. O. FALCÃO DE MORAIS, M. H. MAIA & M. G. MACIEL. 1956. O **Streptomyces** produtor do antibiótico eurimicina — cêpa 7K1 do IAUR — identificado como **S. lavendulæ**. An. Soc. Biol. Pernambuco, **14** (1 e 2), 68-76.

HESSELTINE, C. W., BENEDICT, R. G. & PRIDHAM, T. G. 1954. Useful criteria for species differentiation in the genus **Streptomyces**. Ann. N. Y. Acad. Sci., **60**, 136-151.

MAERZ, A., & M. REA PAUL. 1950. A Dictionary of Color. 2.ª Ed., Mc Graw-Hill Book Co.

PRIDHAM, T. G. & GOTTLIEB, D. 1948. The utilization of carbon compounds by some actinomycetales as an aid for species determination. Jour. Bact., **56**, 107-114.

SANCHEZ-MARROQUIN, A. 1957. **Streptomyces** de amplio espectro antimicrobianos, aislados de suelos de Brasil. Rev. Inst. Antib. Univ. Recife (Brasil), **1** (1), 53-63.

WAKSMAN, S. A. & H. A. LECHEVALIER. 1953. Actinomycetes and their Antibiotics. Williams & Wilkins Co.

SÔBRE UM ANTIBIÓTICO DE ESPECTRO RESTRITO PRODUZIDO POR UM *STREPTOMYCES* (CULT. N.° 721)

Marisa Machado Albuquerque
O. Gonçalves de Lima
Maria Célia Pinto Navarro
Francisco Décio de Andrade Lyra
Evans Silva

(Do Instituto de Antibióticos da Universidade do Recife)

I — INTRODUÇÃO

Um *Streptomyces* de micélio aéreo cinza, ainda não identificado, (cultura 721) — isolado de amostra de terra colhida em Santana do Ipanema, Alagoas — apresenta, em provas de estrias cruzadas, ação antagonista forte contra Gram-positivos e ácido-resistentes e discreta contra Gram-negativos.

De líquidos de cultivo da referida amostra conseguimos isolar uma substância antibiótica, ativa contra Gram-positivos, notadamente *Diplococcus pneumoniæ*.

Os processos de produção, isolamento e caracterização dessa substância constituem o objeto dêste artigo.

II — PRODUÇÃO

O antibiótico é obtido em cultivo agitado no meio 1 *, em frascos de Fernbach, durante 72 horas, à temperatura ambiente (28-30°C). O meio é inoculado com suspensão aqüosa de esporos obtidos nos meios L ** ou agar-Czapek,

---

* Composição do meio 1: Glicose hidratada (Karo), 10 g; Farinha de soja, 10 g; CO_3Ca, 1.0 g; Água, 1000 ml.

** Composição do meio L: Extrato de levedura, 4.0 g; Extrato de malte, 10 g; glicose, 4.0 g; agar, 18 g; Água, 1000 ml. pH 7.3.

êste último com sua concentração de sais reduzida à metade.

III — ISOLAMENTO

No líquido de cultivo filtrado, a pH 7,0, faz-se a adsorção da substância antibiótica com carvão ativo de Merck

QUADRO 1

Espectro antimicrobiano *in vitro* do antibiótico n.º 721

Microorganismo	mcg/ml
B. subtilis 9	0,2 a 0,4
S. aureus	2,0
S. aureus ATCC 10390	1,0 a 2,0
B. anthracis	50,0
B. mycoides	50,0
Sarcina lutea	2,0
M. citreus	10,0
Str. hemolyticus	15,0
Diplococcus pneumoniæ	0,1 a 0,2
N. catarrhalis	15,0 a 20,0
E. coli SR *	> 100,0
Sh. paradysenteriæ	> 100,0
S. typhosa	> 100,0
K. pneumoniæ	> 100,0
Br. suis	10,0
Br. melitensis	8,0
Br. abortus	8,0 a 10,0
Myc. tub. var. *hominis*	> 100,0
Myc. smegmatis	> 100,0
Myc. phlei	> 100,0
N. asteroides	> 100,0
C. albicans	> 100,0
Ps. aeruginosa	> 100,0
Pr. vulgaris	> 100,0
Cr. neoformans	> 100,0
Corynebacterium diphtheriæ	1,0

As provas foram realizadas em agar-nutritivo, exceto para **Diplococcus pneumoniæ** e **C. diphtheriæ**, em que se empregou Eugonagar BBL.

* Resistente à estreptomicina.

(Hellige's Reagenz R 444). O eluato metanólico ácido posteriormente neutralizado com soda e evaporado ao vácuo até concentração adequada, é tratado por acetona ordinária, descartando-se o abundante precipitado formado. O sobrenadante é evaporado a sêco, sendo o resíduo tomado por metanol. A solução metanólica é cromatografada em coluna de alumina de Brockmann, recolhendo-se uma fração ativa que se purifica por distribuição multiplicativa em um sistema n-butanol/água (8 passagens). (Fig. 1).

Por uma distribuição Craig no sistema n-butanol/água (58 passagens), reuniu-se a substância mais ativa nas frações 42 a 47.

IV — PROPRIEDADES

A substância purificada pelo Craig, se apresenta como u'a massa de coloração âmbar-avermelhado, muito solúvel em água e metanol; solúvel em etanol e acetona ordinária, nesta com coloração parda clorêto de ferro.

Em solução metanólica neutra a coloração passa, por acidificação, a amarelo-palha, que depois de alguns momentos varia para salmão-escuro. Por alcalinização a côr se torna amarelo-brilhante, depois de algum tempo.

Reações:

Foram negativas as reações de Schiff, Benedict e Millon; e positiva a de Molish. Com ácido pícrico apresenta leve precipitado (impureza?).

O teste qualitativo para eritromicina, indicado por Grove & Randall [1] foi negativo, oferecendo a substância na solução acetônica clorídrica, uma coloração correspondente à 8L9 do *Dicionário de Côr* de Maerz & Paul (1950) [2] a qual não passou ao clorofórmio.

Também foi negativo o teste indicado pelos mesmos autores para carbomicina.

Em cromatografia sôbre papel (método ascendente; sistema n-butanol/ac. acético/água, 80:20:20, v/v) localizou-se u'a mancha de Rf 0.78, ativa contra *B. subtilis* e reação ninhidrina negativa.

V — ENSAIOS BIOLÓGICOS

1 — O espectro antimicrobiano *in vitro*, é dado no quadro 1.

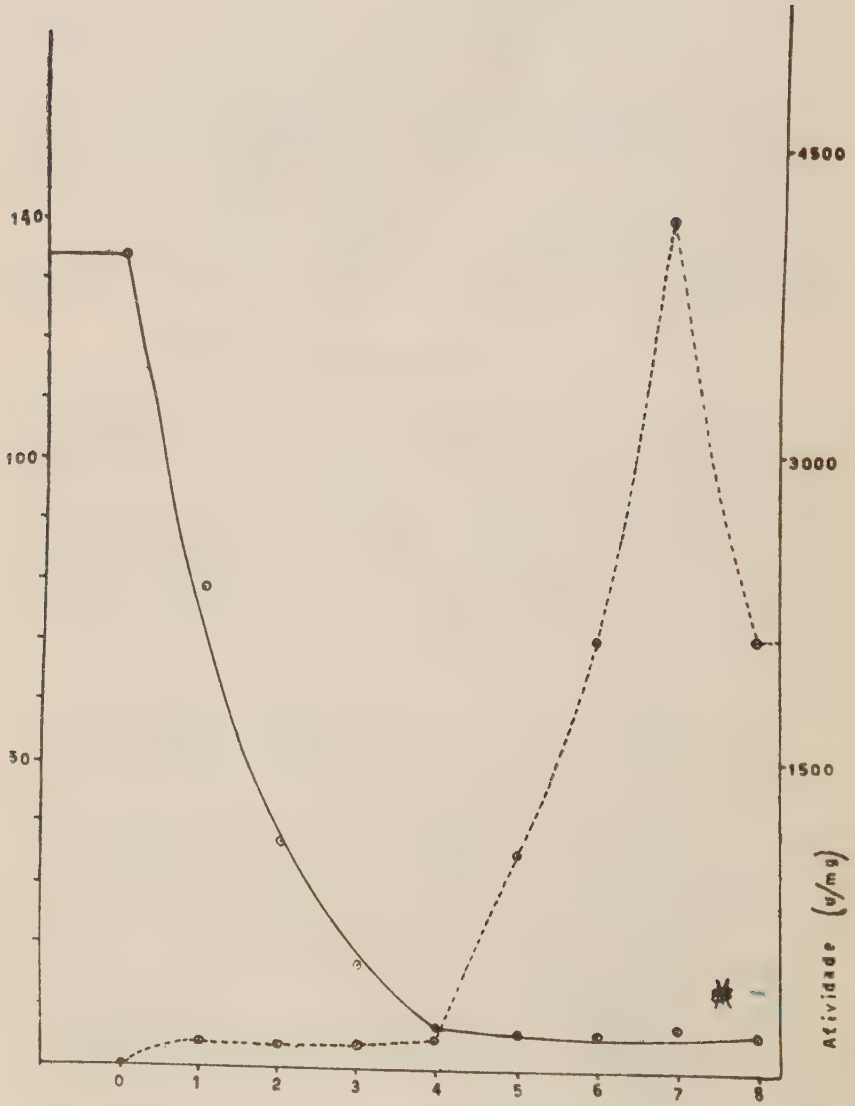


Fig. 1 — Graficos de distribuição do antibiótico 721 Esquerda: resíduo (mg); Direita: Atividade (u/mg)

2 — Toxicidade: Nas doses de 50, 200 e 500 mg por Kg de pêso, via subcutânea, em camundongos suíços albinos, não foi notado nenhum sinal de toxicidade, até 30 dias de observação.

RESUMO

É apresentado um estudo sumário de uma substância antibiótica produzida por um *Streptomyces* não identificado, de micélio aéreo cinza (cultura n.º 721).

O antibiótico é extraído do líquido de cultivo por adsorção com carvão a pH 7,0, fazendo-se a eluição com metanol ácido. Realiza-se uma cromatografia em alumina, a fração ativa sendo submetida a uma distribuição multiplicativa, usando-se o sistema n-butanol/água. A substância assim extraída tem coloração âmbar, é solúvel em água, metanol e etanol. Dá reações negativas de Schiff, Benedict e Millon; é Molish positiva. Dá resultados negativos nos testes guanido e para eritromicina e carbomicina.

A substância tem sua atividade restrita aos Gram-positivos principalmente cocos, inclusive *Diplococcus pneumoniæ*; não tem ação apreciável contra ácido-resistentes, nem Gram-negativos (exceção do gênero *Brucella*).

Aplicada subcutâneamente em camundongos, na dose máxima provada de 500 mg/Kg não apresentou qualquer efeito tóxico aparente até 30 dias de observação.

SUMMARY

The paper deals with an antibiotic substance produced by a nonidentified *Streptomyces* of gray aereal mycelium (culture n. 721).

Method of extraction: Adsorption on active carbon, at pH 7.0, elution with acid methanol, chromatography over column of alumina. The active fraction is submitted to a distribution (system: water saturated butanol and water).

Chemical and physical properties: The substance has amber coloration; is soluble in water, methanol and ethanol; negative Schiff, Benedict and Millon reactions; positive Molish; negative guanido test and the assays for Carbomycin and Erythromycin.

Biological activity: Active, *in vitro*, against gram-positive bacteria, especially *D. pneumoniæ*; nonactive against mycobacteria and gram-negative bacteria (exception to *Brucella*).

Toxicity: Applied subcutaneously in mice, from 50 to 500 mg/Kg, none apparent toxic effect was observed.

ZUSAMMENFASSUNG

Es wurde eine antibiotische Substanz kuerzlich studiert, welche von einem noch nicht identifizierten *Streptomyces* erzeugt wird, dessen Luftmycel graue Farbe aufweisst. (Kultur N.° 721).

Das Antibiotikum wurde aus der Kulturfluessigkeit durch Adsorption von Kohle bei einem pH von 7,0 gewonnen, die Elution wurde mit saurem Methanol gemacht. Es wurde eine Chromatographie mit reiner Tonerde durchgefuehrt, die aktive Fraktion wurde einer Verteilung unterworfen, wobei man als Loesungsmittel mit Wasser gesaettigten Buthylalkohol und Wasser verwendet. Die so extrahierte Substanz hat Amberfarbe, ist loeslich in Wasser, Methylalkohol und Aethylalkohol. Die Reaktionen Schiff, Benedict und Millon sind negativ; Mollisch ist positiv. Sie gibt negative Resultate bei den Testen Guanido und bei Erythromycin und Carbomycin.

Die Substanz hat eine beschraenkte Aktivitaet gegen Gram-positive, (hauptsaechlich gegen Kokken, einschliesslich *D. pneumoniæ*); hat keine besondere Aktivitaet gegen Saeure-resistente und Gram-negative Mikroorganismen, mit Ausnahme der Gattung *Brucella*.

Bei subkutaner Anwendung auf Maeuse, bei einer Maximal-Dosis von 500 mg/kg zeigten sich keine Toxitaetserscheinungen waehrend der 30 Tage Beobachtungszeit.

REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA

1) GROVE, D. C. & W. A. RANDALL — 1955 — "Assay Methods of Antibiotics. A Laboratory Manual". Medical Encyclopedia, Inc. N. Y.

2) MAERZ, A. & M. REA PAUL — 1950 — "Dictionary of Color", 2.ª Ed., McGraw — Hill Book Co.

BREVE NOTA SÔBRE A ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DA BIFLORINA PURIFICADA POR PARTIÇÃO CRAIG

O. Gonçalves de Lima
Ivan Leôncio d'Albuquerque
Bento Magalhães Neto
Mariza Machado de Albuquerque

As interessantes propriedades fisicoquímicas exibidas pela biflorina — mais que a sua extraordinária atividade antibiótica *in vitro* — lhe valeram, desde o seu descobrimento por nós em 1952 [1, 2], um marcante interêsse da parte de outros investigadores, tanto no domínio da química pura como no da fisicoquímica [3, 4].

Recentemente, no entanto, publicou o prof. Jaldemar Serpa um trabalho acêrca da ação curativa do mesmo antibiótico em tricosporonose cutânea, com resultado que êle classificou de "alta eficácia terapêutica" [5], o que nos convenceu da necessidade de apresentar o espectro antimicrobiano da substância purificada segundo o método indicado por Prelog [6], de partição em um sistema constituído de metanol:água:éter-de-petróleo:clorofórmio, 85:15:80:20.

O produto bruto empregado — obtido segundo o processo rápido de extração por nós estabelecido [7] — possuía uma atividade mais elevada do que a que apresentáramos nas nossas duas primeiras comunicações já referidas, de maneira que os valores oferecidos podem servir como representativos de amostras da substância, tal como foi lograda por três métodos diferentes.

Na partição efetuada em um aparelho de partição em contracorrente, de 60 células, cada qual com capacidade de 10ml por fase, e usando-se o sistema atrás apontado, se distribuiu a substância pura nos tubos 26 a 37.

O material, recolhido da região do cume ponderal, é um pó cristalino de côr correspondente a H-12 (Tabela 8) (*Cattail, Café Noir*) (com reflexo dourado) do *Dicionário de Côres* de Maerz & Paul [8], oferecendo atividade antimicrobiana bem mais elevada do que as logradas anteriormente, tanto na substância bruta como na parcialmente purificada, conforme se pode apreciar no Quadro I.

QUADRO I

Concentrações mínimas de inibição (μg/ml) de amostras de biflorina bruta (obtida por três métodos diferentes) e do produto puro.

Microorganismo	Biflorina bruta			Biflorina pura
	a	b	c	
Bacillus subtilis 9	0,80	0,50	0,30	0,05
Bacillus subtilis 28	—	0,70	0,10	0,01
Bacillus anthracis	0,20	0,04	0,20	0,07
Bacillus mycoides	0,05-2,7	0,74	0,30	0,15
Staphylococcus aureus ATCC	—	—	0,20	0,09
Staphylococcus aureus W	5,25	1,40	—	0,07
Diplococcus pneumoniae	—	—	—	0,70
Sarcina lutea	0,05	0,04	0,09	0,01
Streptococcus pyogenes	—	—	0,90	0,70
Neisseria catharralis	—	—	—	0,45
Mycobacterium tuberculosis	0,54	—	—	0,25
Mycobacterium phlei	0,80	0,50	—	0,07
Mycobacterium smegmatis	8,00	1,50	—	0,35
Nocardia asteroides	—	—	—	0,60
Escherichia coli R	> 100	—	> 100	> 100
Klebsiella pneumoniae	> 100	—	—	> 100
Shigella flexneri	> 100	—	—	> 100
Salmonella typhosa	—	—	—	> 100
Brucella melitensis	1,35	0,30	0,80	0,30
Brucella suis	2,70	0,72	0,40	1,50
Pseudomonas aeruginosa	—	—	—	100

REFERÊNCIAS

1) GONÇALVES DE LIMA, O., I. LEÔNCIO D'ALBUQUERQUE, P. LOUREIRO, C. LARIOS CARMONA & M. ZAPATA BENARD, Biflorina, novo antibiótico isolado da *Capraria biflora (Scrophulariaceae)*. **Rev. Quím. Ind.** n.º 249, Ano XXII, 1953.

2) GONÇALVES DE LIMA, O., I. LEÔNCIO D'ALBUQUERQUE & P. LOUREIRO. Novas observações sôbre a Biflorina — antibiótico isolado da *Capraria biflora* L. *(Scrophulariaceae)*. **An. Soc. Biol. Pernambuco. 11**: 3, 1953.

3) PRELOG, V. — Comunicação pessoal.

4) HOPPE, W., Die Faltmolekülmethode und ihre Auwendung in der röntgenographischen Konstitutionsanalyse von Biflorin (C_{20} H_{20} O_3). **Z. Elektrochem.** Bd 61, Helf 8: 1076-1083, 1957.

5) SERPA, JALDEMAR, Tricosporonose cutânea curada com Biflorina. **An. Fac. Med. Univ. Recife. 18**: 33-37, 1958.

6) GONÇALVES DE LIMA, O., W. KELLER-SCHIERLEIN und V. PRELOG, Uber das Biflorin, **Helv. 41**, 1386-1390, 1958.

7) GONÇALVES DE LIMA, O., I. LEÔNCIO D'ALBUQUERQUE, Método simples da extração da biflorina, **Rev. Inst. Antibióticos, 1**: 7-9, 1958.

8) MAERZ, A., M. REA PAUL, A Dictionary of Color, 1950, p. 38.

SÔBRE UMA VARIEDADE DE *STREPTOMYCES* COMUM NOS SOLOS DO BRASIL: *STREPTOMYCES VENEZUELÆ* VAR. *ROSEOSPORI* NOV. VAR.

José Otamar Falcão de Morais
Maria Helena Dália Maia
Maria Emília Souto Maior Genn

(Do Instituto de Antibióticos da Universidade do Recife)

Num trabalho sôbre *Streptomyces lavendulæ* (Falcão de Morais *et al.*, 1958), fizemos referência a sete culturas que, sob vários aspectos, se comportaram como *Streptomyces venezuelæ*; essas amostras não foram, porém, consideradas daquela espécie por apresentarem umas certas diferenças em relação à mesma.

Posteriormente, conseguimos incorporar mais seis amostras semelhantes e o conjunto de treze cêpas foi estudado cuidadosamente, sendo, neste artigo, apresentados os resultados dêsse estudo.

MÉTODOS

Os métodos seguidos foram os mesmos indicados no artigo acima citado, isto é, uma fusão dos procedimentos até então usuais para estudar *Streptomyces* com aquêles para o mesmo fim propostos por Hesseltine *et al.* (1954).

AMOSTRAS

No quadro adiante apresentamos as amostras estudadas e o local de onde proveio o solo para seu isolamento.

CÊPAS	SOLO DE ORIGEM
A 5	Paulista — Pernambuco
FC 2	Olinda — "
FC 269	" — "
FC 277	" — "
FC 289	" — "
FC 290	" — "
286	Prazeres — "
854	Recife — "
741	Pão-de-Açúcar — Alagoas
965	Serra-Grande — "
966	" — "
1010	" — "
947	Cosmópolis — São Paulo

Além dessas cêpas incluimos, para comparação, *S. venezuelæ* ATCC 10595.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

As 13 culturas têm um comportamento homogêneo sob todos os aspectos. Não podem ser consideradas simplesmente como *S. venezuelæ* Ehrlich *et al.*, pelo seguinte:

1. Não produzem antibiótico; das 13 amostras nenhuma é ativa; quando muito uma ou outra dá, em estrias cruzadas, um pequeno halo contra *S. aureus* e (ou) *B. subtilis*;

2. Não produzem pigmento marrom-escuro nos meios orgânicos (fàcilmente se distingue *S. venezuelæ* ATCC 10595 das outras 13, por êsse caráter, principalmente nos meios de gelatina, leite, ôvo (Dorset) e glicose-agar);

3. O micélio aéreo das 13 culturas, se bem que em alguns meios seja semelhante na côr ao de *S. venezuelæ* (creme-róseo a cinza-branco) não é, em nenhuma oportunidade, lavanda, como acontece com o daquela espécie. Além disso se distingue pela consistência flocosa, fàcilmente sendo arrastado pelo fio de platina.

Assim sendo, não temos dúvida de que estamos, realmente, diante de um microorganismo diferente do *Streptomyces venezuelæ*; não se enquadram as suas caracterísli-

cas perfeitamente dentro daquelas descritas por *Ehrlich et al.*

Por outro lado, caracteres importantes e pouco variáveis como morfologia, utilização de compostos orgânicos e outros, menos marcantes, como hidrólise de amido, redução de nitrato a nitrito, etc., que são comuns a *S. venezuelæ* e ao nosso grupo, nos deixam dúvidas sôbre a justeza da classificação de nossas amostras como espécie diferente daquela. O mais provável é que ambas pertençam a um tronco único ou uma derive da outra, por variação.

Como não somos partidários da dispersão dos actinomicetos — e do gênero *Streptomyces* em particular — em um número cada vez maior de espécies, preferimos considerar as amostras do grupo estudado como de uma variedade de *Streptomyces venezuelæ* a que chamamos *roseospori*, pela característica coloração rosa do seu micélio aéreo. Isto porque acreditamos, com outros autores, ser bem menor a quantidade de espécies de *Streptomyces* existentes na natureza; e que, só por ser freqüente a variabilidade no campo fisiológico (produção de pigmentos nos diversos meios de cultura, atividade proteolítica, redução de nitrato a nitrito, hidrólise de amido, produção de substâncias antibióticas, para citar os casos mais importantes) pesquisadores têm sido levados, no passado e ainda mais no presente, com o interêsse pela procura de antibióticos, à criação de centenas de espécies diversas.

Baldacci (1954) em sua chave das "séries" de *Streptomyces* dá a série *roseus* como constituida por culturas com micélio vegetativo incolor e micélio aéreo rosa-pálido. Dêsse modo, as nossas amostras pertencem à série *roseus* de Baldacci e chegámos a pensar que elas pudessem ser identificadas como *Streptomyces roseus*. Porém, não nos foi possível firmar êsse diagnóstico devido à divergência existente entre os autores sôbre o que representa o *taxon Streptomyces roseus*. Senão vejamos: No artigo referido Baldacci ao dar exemplos de espécies de cada série cita *Actinomyces roseus* Namyslowski e *Actinomyces roseochromogenes* Jensen (*Actinomyces* Baldacci = *Streptomyces* Waksman & Henrici) como pertencentes à série *roseus*; logo, êle os considerou como tendo micélio vegetativo incolor e micélio aéreo róseo. Entretanto, segundo Krassilnikov (1949), que por sua vez se baseia em Namyslowski (1912), *Actinomyces roseus* tem micélio vegetativo róseo; Waksman e Lechevalier (1953) têm a mesma opinião de Krassilnikov. Mi-

célio vegetativo róseo tem, também, o *S. roseochromogenes* (Bergey's Manual, 1957).

Temos aí um exemplo da confusão reinante no estudo dos actinomicetos. Essa confusão é gerada muitas vêzes (como parece no caso atual) pelo emprêgo de uma terminologia ambígua, principalmente nas descrições antigas, onde nem sequer se faz uma distinção satisfatória entre a côr do desenvolvimento vegetativo e a do micélio aéreo esporulado.

Felizmente, a tendência atual é para firmar o estudo dos actinomicetos em bases mais consistentes, mais racionais ,tornando possível a qualquer interessado, sem grande esfôrço, classificar u'a amostra senão numa espécie, pelo menos num grupo estreito e definido. Nesse sentido parece-nos, se bem ainda não tenhamos elementos para firmar um juízo sólido a respeito, que Pridham *et al.* (1958) têm razão quando consideram os *Streptomyces* como microfungos e sua morfologia como o caráter menos variável, propondo, em conseqüência, um esquema de classificação com base morfológica, seguindo o Código Internacional de Nomenclatura Botânica. Êles dividem os *Streptomyces* em 7 "Seções morfológicas", cada uma dessas sendo, por sua vez, dividida em "Séries" conforme a côr do micélio aéreo esporulado.

Obedecendo a êsse critério nosso *Streptomyces venezuelæ* var. *roseospori* (como também *Streptomyces venezuelæ* Ehrlich *et al.*) fica assim determinado:

SEÇÃO: *Rectus-Flexibilis* (Estreptomicetos de micélio aéreo com esporóforos retos, flexuosos ou fasciculados; sem espirais).

SÉRIE: Vermelha (Estreptomicetos com micélio aéreo róseo, vermelho, lavanda ou cinza-lavanda).

Descrição do *Streptomyces venezuelæ* var. *roseospori* Nov. Var.

Micélio aéreo — Hifas longas e retas, podendo, entretanto, ocorrerem algumas com extremidades recurvadas. Espirais típicas não são observadas. "Seção, **Rectus-Flexibilis**, segundo Pridham **et al.** (1958). Os conídios são na maioria cilíndricos. O micélio aéreo, quando tocado pelo fio de platina, é fàcilmente arrastado como película; é de consistência flocosa. Os esporos **en masse** têm coloração rósea: 2A8 a 2A9 do "Dictionary of Color" de Maerz & Paul (1950).

Micélio vegetativo — Incolor na maioria dos meios sintéticos, pode ser castanho-amarelado em alguns (por exemplo no meio de Pridham-Gottlieb com lactose, xilose, ramnose ou outra fonte de carbono assimilável). **Nos**

meios complexos o micélio vegetativo é incolor ou creme-amarelado. Em nenhuma ocasião houve produção de pigmento marrom-escuro solúvel.

Agar-extratos de levedura e malte (Meio L) ("Yeast Extract agar") — Micélio aéreo róseo. Reverso amarelado. Pigmento solúvel não produzido ou marrom muito claro.

Agar-Czapek — Micélio aéreo róseo — nas culturas recém-isoladas; com sucessivas repicagens pode haver uma perda da coloração rósea, tornando-se creme quase branco. Reverso incolor ou levemente amarelado. Ausência de pigmento solúvel.

Agar-amido — Como no meio de Czapek.

Agar-malato de cálcio — Micélio aéreo róseo-claro ou branco; reverso incolor ou castanho muito claro. Pigmento solúvel não produzido.

Agar-asparagina-glicose — Como em malato de cálcio.

Agar-nutritivo — Desenvolvimento creme-claro. Micélio aéreo branco-acinzentado ou ausente. Pigmento solúvel não produzido.

Agar-glicose — Micélio aéreo fôfo (cotonoso), creme-acinzentado, às vêzes com um tom róseo-claro. Reverso incolor ou marrom-claro-amarelado. Pigmento solúvel ausente ou marrom-claro.

Batata — Desenvolvimento marrom-alaranjado ou creme. Micélio aéreo ausente ou cinza-claro. Pigmento solúvel marrom-alaranjado ou ausente.

Gelatina — Desenvolvimento amarelado. Em geral observa-se uma liquefação total (3cm) entre 15 e 20 dias, algumas culturas só o fazendo após 30 dias. Pigmento não produzido ou amarelo-ouro, pouco intenso.

Leite — Peptonização total (3cm) entre 15 e 20 dias. Pigmento não produzido.

Celulose — Crescimento positivo.

Amido — Hodrólise em geral forte (1 a 5 mm de halo ao 10.º dia).

Nitrato — Em geral forte redução a nitrito.

Capacidade antagonista — Antibióticos não produzidos; quando muito encontram-se algumas amostras com ligeira ação em meio sólido contra **B. subtilis** ou **S. aureus**, ou contra ambos.

Utilização de carbono — Os seguintes compostos são utilizados: ramnose, xilose, arabinose, lactose, galactose, melibiose e salicina; citrato de sódio é de assimilação variável; frutose é negativa ou proporciona apenas leve crescimento. São negativos: melezitose, rafinose, sacarose, manitol, adonitol, inositol e inulina.

NOTA: — A variedade distingue-se da espécie na atividade antibiótica (as 13 culturas estudadas são inativas mesmo quando recém-isoladas); por não ser cromogênica; e pelo micélio aéreo, que é róseo-claro ou róseo-ocre, não chegando em nenhuma oportunidade a ser lavanda.

Sporophori recti vel flexuosi. Sectio **Rectus-Flexibilis** et Series **Rubra** secundum Pridham et al. (1958).

Mycelium aereum roseum-clarum. Mycelium vegetativum sine colore in mediis synthethicis etsi esse possit murreo-fulvum in aliis mediis (v. g., in medio basico Pridham et Gottlieb cum fonte aliqua carbonis assimilabilis). In mediis complexis, mycelium vegetativum colorem non habet etsi aliquando cremi-fulvum sit.

Pigmentum solubile non productum, idest, nonapparuit. Culturæ non sese opponunt (aliquæ amostræ dare possunt in mediis solidis suavis actio contra Gram-positivos); antibiotici non producuntur. Gelatina liquefacta (3 cm) inter 15 et 30 dies. Lac peptonizatum (3 cm) inter 15 et 20 dies. Celulosis usa est. Amylum hidrolizatum (1 ad 5 mm coronæ ad 10.º diem). Nitratum ad nitritum reductum.

Carbonis utilisatio: positiva ramnosis, xilosis, arabinosis, lactosis, galactosis, melibiosis et salicinæ; citratum sodii assimilationis variabilis est; fructosis negativa est vel tantum leviter crescit. Melesitosis, rafinosis, saccharosis, manitol, adonitol, inositol et inulina non usi sunt.

Varietas ab specie distinguitur quia non est antagonica neque cromogenica et quia mycelium habet aerum, quod est molle (cotonosum) et roseum, nunquam, autem, lavandum.

ALGUNS MEIOS DE CULTURA EMPREGADOS

1. Agar-extratos de levedura e malte ("Yeast-extract agar"): Extrato de levedura, 4.0 g; extrato de malte, 10.0 g; glicose, 4.0 g; agar, 18 g; água destilada, 1000 ml; pH não ajustado.

2. Agar-malato de cálcio: Malato de cálcio, 10.0 g; $ClNH_4$, 0.5 g; PO_4HK_2, 0.5 g; agar, 18 g; água destilada, 1000 ml; pH 7.0.

3. Agar-amido: Amido solúvel, 20.0 g; PO_4HK_2 , 1.0 g; $SO_4Mg.7H_2O$, 0.5 g; NO_3Na, 2.0 g; CO_3Ca , 2.0 g; água destilada, 1000 ml.

RESUMO

São estudadas 13 amostras de *Streptomyces* com micélio aéreo róseo, isoladas de solos de três Estados do Brasil, as quais constituem um grupo homogêneo sob todos os aspectos.

Apresentam alguns caracteres comuns à espécie *S. venezuelæ* Ehrlich *et al.*, como, p. ex., mesmo esquema de utilização de carbono, morfologia semelhante e igual ação sôbre amido e nitrato. Por outro lado distinguem-se daquela espécie por não produzirem antibióticos, não serem cromogênicas em meios orgânicos e nunca terem apresentado o micélio aéreo com coloração lavanda, mas sempre róseo.

Não tendo encontrado na literatura uma descrição de espécie que enquadre as características dessas amostras, e, por outro lado, considerando que as qualidades comuns entre as amostras estudadas e *S. venezuelæ* são muito marcantes, os AA propõem para as mesmas a denominação de *Streptomyces venezuelæ* var. *roseospori* Nov. Var.

Aplicando o critério morfológico de Pridham *et al.* (Appl. Microb. *6*, 52-79, 1958) essa variedade (do mesmo modo que a espécie) será incluída na SEÇÃO *Rectus-Flexibilis* e na SÉRIE vermelha.

SUMMARY

In this paper 13 strains of *Streptomyces* were studied. All the strains had rose or shell pink aereal mycelium and were isolated from soils of three different States of Brazil. These samples were entirely homogeneous, presenting several common characteristics of the species *S. venezuelæ* Ehrlich *et al.*, like the same carbon utilization pattern, identical

morphology and the same action on starch and nitrate.

Notwithstanding the metioned isolates are distinguishable from *S. venezuelæ* because they do not produce neither antibiotic substances nor they are chromogenic on organic media, as well as they never show lavender color in the aereal mycelium, which is always rose.

As the literature does not mention such a kind of species characteristics, and by other hand considering the strong common characteristics between *S. venezuelæ* and the group studied, the Authors propose the new denomination *Streptomyces venezuelæ* var. *roseospori* Nov. Var. for these strains.

The authors include this new variety in the *"Morphological section" Rectus-Flexibilis* and in the Red "series" of Pridham's classification (Pridham *et al.* 1958. Appl. Microb., *6*, 52-79).

ZUSAMMENFASSUNG

Es sind hier 13 Stamme von *Streptomyces* studiert, welche aus Erdmunstern von drei Staaten Brasiliens isoliert wurden, rosafarbiges Luftmycel haben und welche von allen Gesichtspunkten aus eine homogene Gruppe bilden. Sie zeigen einige Eigenschaften, die der Art *S. venezuelæ* Ehrlich *et al.* angehoeren wie z.B. dasselbe Schema des Kohlenstoffverbrauches, aehnliche Morphologie und die gleiche Aktion auf Staerke und Nitrat.

Andererseits unterscheiden sie sich von dieser Art, weil sie kein Antibiotikum bilden sind im organischen Mittel nicht chromogen und zeigten niemals das Lufmycel mit Lavendel-Faerbung, sondern dieses ist immer rosa gefaerbt.

Die Verf. jedoch fanden in der Literatur keinerlei Beschreibung, welche sich auf die studierten Muster bezieht und da diese aber sehr wichtige Eigenschaften mit der Art *S. venezuelæ* Ehrlich *et al* gemein haben, ueberlegten die Verf. dass es richtiger waere, besagte Muster als eine Varietaet dieser Art zu bezeichnen und nicht als neue Art anzusehen. Wegen dieser Verschiedenheit schlagen die Verf. die Benennung: *Streptomyces venezuelæ* var. *roseospori* Nov. Var. vor.

Nach dem morphologischem Kriterium von Pridham *et al.* (Appl. Microb., *6*, 52-79, 1958) *Streptomyces venezuelæ* var. *roseospori* (auf dieselbe Weise bleibt *S. venezuelæ* Ehrlich *et al.*) wie folgend bestimmt:

Abteilung: *Rectus-Flexibilis*; Rote Serie.

REFERÊNCIAS

BALDACCI, E., C. SPALLA & A. GREIN. 1954. La classificazione delle specie di **Actinomyces** (**Streptomyces**). Ann. Micr., **6**, 41-50.

BREED, R. S., E. G. D. MURRAY, N. R. SMITH. 1957. Bergey's Manual of Determinative Bacteriology. The Williams & Wilkins Co.

FALCÃO DE MORAIS, J. O., M. H. DÁLIA MAIA & M. E. GENN. 1958. Um estudo taxonômico em tôrno do **Streptomyces lavendulæ. S. lavendulæ** var. **brasilicus** Nov. Var. Rev. Inst. Antib. Univ. Recife (Brasil) **1** (2), 69-87.

HESSELTINE, C. W., R. G. BENEDICT & T. G. PRIDHAM. 1954. Useful criteria for species differentiation in the genus **Streptomyces**. Ann. N. Y. Acad. Sci., **60**, 136-151.

KRASSILNIKOV, N. A. 1949. Guide to the identification of bacteria and Actinomycetes. Acad. Sci. URSS, Moscow. (J. B. Routien, Editor. USA).

MAERZ, A. & M. REA PAUL. 1950. "A Dictionary of Color" 2.º Ed., Mc Graw-Hill Book Co.

NAMYSLOWSKI, B. 1912. Beitrag zur Kenntnis der menschlichen Hornhautbakteriosen. Cent. f. Bakt. I Abt., Orig., **62**, 564-568.

PRIDHAM, T. G., C. W. HESSELTINE & R. G. BENEDICT. 1958. A guide for the classification of Streptomycetes according to selected groups. Appl. Microb., **6**, 52-79.

WAKSMAN, S. A. & H. A. LECHEVALIER. 1953. Actinomycetes and their Antibiotics. The Williams & Wilkins Co.

SUBSTÂNCIAS ANTIMICROBIANAS DE PLANTAS SUPERIORES

Comunicação XII — Sôbre um interessante antibiótico de natureza acídica, encontrado no caule de uma liana das matas de Pernambuco (*Aristolochia sp*)

O. Gonçalves de Lima
Jacyrema A. Bandeira
Marisa M. de Albuquerque
Bento Magalhães Netto
Evans Silva
Júlio Vicente Alves de Araújo

A ocorrência de antimicrobianos em uma espécie do gênero *Aristolochia*, foi constatada por um de nós com colaboradores, em 1951 [1], no México. Outras duas espécies, *A. clematitis* e *A. fimbriata* foram referidas por Orborn (1943) como portadoras de antibiótico ativo contra *Staphylococcus aureus* [2].

No presente trabalho são expostos os primeiros resultados obtidos com uma substância com ação contra germes Gram-positivos e ácido-resistentes, ocorrendo na parte epidérmica do caule de uma *Aristolochia*, vegetando nas matas dos arredores ao sul do Recife e conhecida vulgarmente como "Cipó branco".

As características do antibiótico agora apresentado o distinguem fundamentalmente dos dois outros princípios anteriormente estudados na *A. foetida*, denominada "raiz-de-índio" ou tlacopacle, no México.

ISOLAMENTO

As raspas de cascas de caule da planta, colhida nas matas do Curado (Recife), durante os meses de setembro e dezembro, foram tratadas por etanol e acetona. O resi-

duo da evaporação do extrato foi tratado por etanol aquoso a 40% e por éter etílico livre de peróxido, conjuntamente.

O resíduo sólido da fase etérea foi retomado por éter etílico, no menor volume, e tratado por éter de petróleo (p. eb. 30º a 60º C.), em excesso. O abundante precipitado formado foi rejeitado por pouco ativo, evaporando-se a solução etérea à secura e repetindo-se no resíduo o tratamento anterior, até ausência de precipitação. O material obtido por evaporação da solução etéreo-ligroínica foi dissolvido em etanol e submetido a carvão ativo (MERCK; Título de azul de metileno 10-11), o qual elimina do produto ativo quase tôda matéria corante que o acompanha. A substância obtida pela eliminação do solvente apresentou aspecto vítreo e consistência resinóide, quase incolor, com um leve tom amarelo-esverdeado, de odor tênue de fruta (manga). Sua atividade foi de cêrca de 4 μg/ml para *B. subtilis* 9. (Quadro I). O rendimento logrado sôbre as raspas foi de cêrca de 5%.

QUADRO I

Concentrações mínimas de inibição (μ g/ml) da substância bruta

Microorganismo	μ g/ml
Bacillus subtilis 9	3,5
Bacillus anthracis	4,0
Bacillus mycoides	4,5
Bacillus cereus	4,5
Staphylococcus aureus ATCC	17,5
Staphylococcus aureus W	22,5
Staphylococcus albus	15,0
Staphylococcus citreus	6,5
Sarcina lutea	4,5
Streptococcus pyogenes	> 100,0
Neisseria catharralis	10,0
Mycobacterium tuberculosis	15,0
Mycobacterium phlei	10,0
Mycobacterium smegmatis	17,5
Nocardia asteroides	4,5
Nocardia brasiliensis	8,0
Escherichia coli R	> 100,0
Klebsiella pneumoniae	> 100,0

Shigella flexneri	> 100,0
Salmonella typhosa	> 100,0
Brucella melitensis	17,5
Brucella suis	> 100,0
Brucella abortus	> 100,0
Pseudomonas aeruginosa	> 100,0
Proteus vulgaris	> 100,0
Candida albicans	> 100,0
Candida krusei	> 100,0
Cryptococcus neoformans	> 100,0

PURIFICAÇÃO

O material bruto acima referido, foi tratado a frio, por solução alcoólica de KOH a 26%, até ausência de turvação ao diluir-se com água. Depois de eliminada a fração insaponificável por sucessivos tratamentos da mistura hidroalcoólica por éter etílico livre de peróxido, foi a solução acidificada, sob arrefecimento, por ácido cloridríco diluído, extraindo-se, em seguida o princípio ativo com éter de petróleo. O resíduo da evaporação da solução ligroínica — prèviamente lavada com água — apresenta atividade de 1,5 a 3,0 μ g/ml contra *B. subtilis* 9. (Quadro II).

QUADRO II

Concentrações mínimas de inibição (μ g/ml) da substância parcialmente purificada

Microorganismo	μ g/ml
Bacillus subtilis 9	3,0
Bacillus anthracis	3,5
Bacillus mycoides	5,0
Bacillus cereus	5,0
Staphylococcus aureus ATCC	11,0
Staphylococcus aureus W	17,0
Staphylococcus albus	5,0
Staphylococcus citreus	1,0
Sarcina lutea	2,0
Streptococcus pyogenes	> 100,0
Neisseria catharralis	5,0
Mycobacterium tuberculosis	9,0
Mycobacterium phlei	6,5

Mycobacterium smegmatis	12,0
Corynebacterium diphtheriae	1,0
Nocardia asteroides	3,5
Nocardia brasiliensis	4,0
Eschericia coli R	> 100,0
Klebsiella pneumoniae	> 100,0
Shigella flexneri	> 100,0
Salmonella typhosa	> 100,0
Brucella melitensis	13,0
Brucella suis	70,0
Pseudomonas aeruginosa	> 100,0
Proteus vulgaris	> 100,0
Candida albicans	> 100,0
Cryptococcus neoformans	> 100,0

Uma purificação ulterior foi levada a efeito em aparelho de distribuição em contra-corrente, de 60 células, usando-se como sistema n-heptano/etanol aquoso (80%). Como resultado, se constatou um cume ponderal (fig. 1) no tubo 47 com correspondência ao de atividade (0,5 μ g/ml) contra *B. subtilis* 9.

Uma outra elevação, mal definida, se apresentou entre os tubos 5 e 8, com atividade medíocre (20 μg/ml). Recolhendo-se os resíduos dos tubos ns. 44 a 50 cuja atividade é vista no quadro III, submeteu-se o material a nova partição, usando-se o mesmo sistema anterior e 58 unidades.

QUADRO III

Concentrações mínimas de inibição (μ g/ml) da substância purificada

Microorganismo	μ g/ml
Bacillus subtilis 9	1,0
Bacillus anthracis	1,5
Bacillus mycoides	2,0
Bacillus cereus	2,0
Staphylococcus aureus ATCC	9,0
Staphylococcus aureus W	13,5
Staphylococcus citreus	0,8
Diplopoccus pneumoniae ATCC	1,5
Diplococcus pneumoniae (104)	0,9

Sarcina lutea	0,8
Streptococcus pyogenes	> 100,0
Neisseria catharralis	2,0
Mycobacterium tuberculosis	3,0
Mycobacterium phlei	0,9
Mycobacterium smegmatis	4,0
Corynebacterium diphtheriae	0,9
Nocardia asteroides	1,5
Eschericia coli R	> 100,0
Klebsiella pneumoniae	> 100,0
Shigella flexneri	> 100,0
Salmonella typhosa	> 100,0
Brucella melitensis	9,0
Brucella suis	60,0
Brucella abortus	70,0
Pseudomonas aeruginosa	> 100,0
Proteus vulgaris	> 100,0
Candida albicans	> 100,0
Cryptococcus neorformans IHM	> 100,0
Cryptococcus neoformans ENCB	> 100,0
Fusarium lycopersice	> 150,0
Chaetonium amphitricum	> 150,0
Aspergillus glaucus	> 150,0
Fusarium cubensis	> 150,0
Penicilium decubens	> 150,0
Beauveria densa	> 150,0

O cume ponderal nesta operação ocorreu no tubo 41, conforme se observa na fig. 2, onde também é apresentada a curva teórica correspondente.

PROPRIEDADES

A substância purificada se apresenta quase incolor, como um líquido espêsso à temperatura ambiente (28º C.), com leve odôr de manga (*Mangifera indica*). Foi feita uma tentativa de determinação de p.f. em u'a amostra da substância não completamente purificada, observando-se um valor próximo a - 9º C. É fàcilmente solúvel em metanol etanol e seus homólogos mais próximos, éter etílico, acetona, éter de petróleo, benzeno, ácido acético glacial, acetato de etila e piridina. É pouco solúvel, a frio, em solução de NaOH a 5%. Em sua forma ácida é quase insolúvel em água pura. É òticamente ativa, com uma rotação especí-

fica $|\alpha|_D^{30} = -75{,}68$. Seu índice de refração é $n_D^{30} = 1{,}5073$. É termostável, não apresentando perda de atividade por ebulição durante 1 h em solução alcoólica de KOH 0,5 N. A substância não possui nitrogênio. Dissolve-se em ácido sulfúrico concentrado com coloração amarelo-laranja. É pouco solúvel em ácido sulfúrico a 80%, com coloração rósea.

Foram negativos os testes de cloreto de ferro Fe III, e ácido p-diazobenzeno-sulfônico.

Foi fortemente positiva a prova de absorção de bromo. O teste de Legal foi negativo. As reações de Liebermann-Storch e de Storch-Morawski foram positivas na substância bruta, enquanto no produto purificado resultaram negativas. Schiff negativo. Do mesmo modo as reações com 2,4-dinitrofenilhidrazina e hidroxilamina. O índice de acidez que antes da purificação ofereceu um valor médio de 181,8, passou a 172,5 no resíduo correspondente ao cume de atividade na partição referida. Foi realizada com êxito uma prova de esterificação com etanol a 3% de gás clorídrico, determinando-se no produto resultante (devidamente purificado) os índices de acidez e de saponificação, com valores, respectivamente de 2,5 e 172,5.

O índice de iodo da substância parcialmente purificada (saponificável solúvel em éter de petróleo) foi de 130,9.

O espectro de absorção no ultravioleta, em solução etanólica é apresentado na figura III. (Espectrofotômetro Beckmann DU).

TOXIDEZ

As provas de toxidez da substância parcialmente purificada foram conduzidas em camundongos, usando-se so-

TOXIDEZ EM CAMUNDONGOS

Dose única (mg/Kg)	Via	N.º Total de Animais	Sobreviventes/Mortos
400	Subcutânea	5	5/0
750	"	5	5/0
1000	"	5	5/0
1200	"	5	5/0
1500	"	5	4/1 (*)

(*) Após 7 dias de observação.

lução aquosa do seu sal sódico (pH 8,7) por via subcutânea.

Não foram registrados sinais de intoxicação aguda, sendo os animais observados durante um período de 40 dias após, sem que apresentassem fenômenos denunciadores de intoxicação tardia.

RESUMO

Da parte epidérmica do caule de uma *Aristolochia*, denominada vulgarmente "Cipó Branco", vegetando nas matas ao Sul da cidade do Recife, foi isolada uma substância lipofílica e acídica, ativa contra germes Gram-positivos e ácido-resistentes.

É descrito o método de purificação e apresentada uma súmula de dados acêrca de suas propriedades, destacando-se sua termostabilidade em meio alcalino e sua baixa toxidade para camundongos albinos.

SUMMARY

From the epidermis portion of the stem of the *Aristolochia* commonly named "cipó branco", growing in the south woods of Recife city was isolated a lipophilic and acidic substance active against Gram-positive and acid-fast organisms.

It is described the method of purification and presented a summary of data about its properties bringing out its termostability in alkaline media and low toxidity for albino mice.

ZUSAMMENFASSUNG

Aus dem epidermischen Teil des Stengels einer Rankenpflanze, gewoehnlich "Cipó Branco" genannt, die eine *Aristolochia*-Art ist und in den schattigen Waeldern suedlich von Recife (Pernambuco) gedeiht, wurde ein lipophiler, saurer Hemmstoff isoliert. Die Substanz ist aktiv gegen Gram-positive und saeurebestaendige Mikroorganismen.

Man beschreibt die Isolierungs und Reinigungsmethoden, desgleichen werden auch einige Angaben ueber die aussergewoehnlichen Eigenschaften des Antibiotikums wie seine Hitzebestaendigkeit und niedrige Toxitaet bei Tierversuchen vorgelegt.

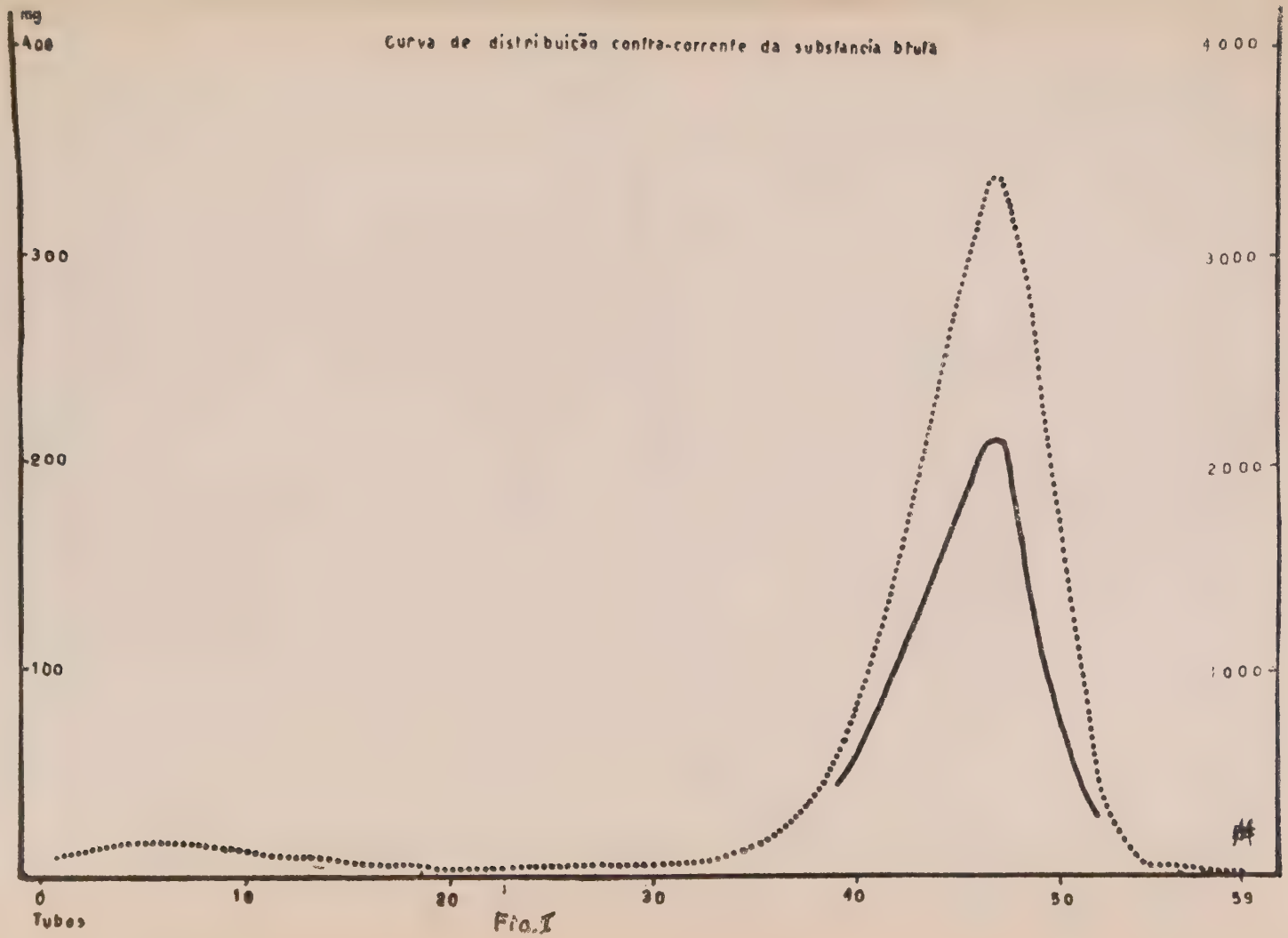
AGRADECIMENTO

Os autores agradecem a valiosa contribuição do professor Dárdano de Andrade Lima que se encarregou do estudo do material botânico e ao técnico Manoel Rodrigues, por sua eficaz colaboração durante esta fase das pesquisas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1) GONÇALVES DE LIMA, O., C. LARIOS, M. ZAPATA y U. DJENDZIELEWSKY — Primeras observaciones sobre un antibiótico aislado de la planta denominada "raiz de indio", *Aristolochia sp.* — CIENCIA, XII :31, 1952.

2) FLOREY, H. W., E. CHAIN et. al. — ANTIBIOTICS. Oxford Univ. Press. Vol. I. 591, 1949.



Curva de distribuição contra-corrente da substancia bruta

Fig. I

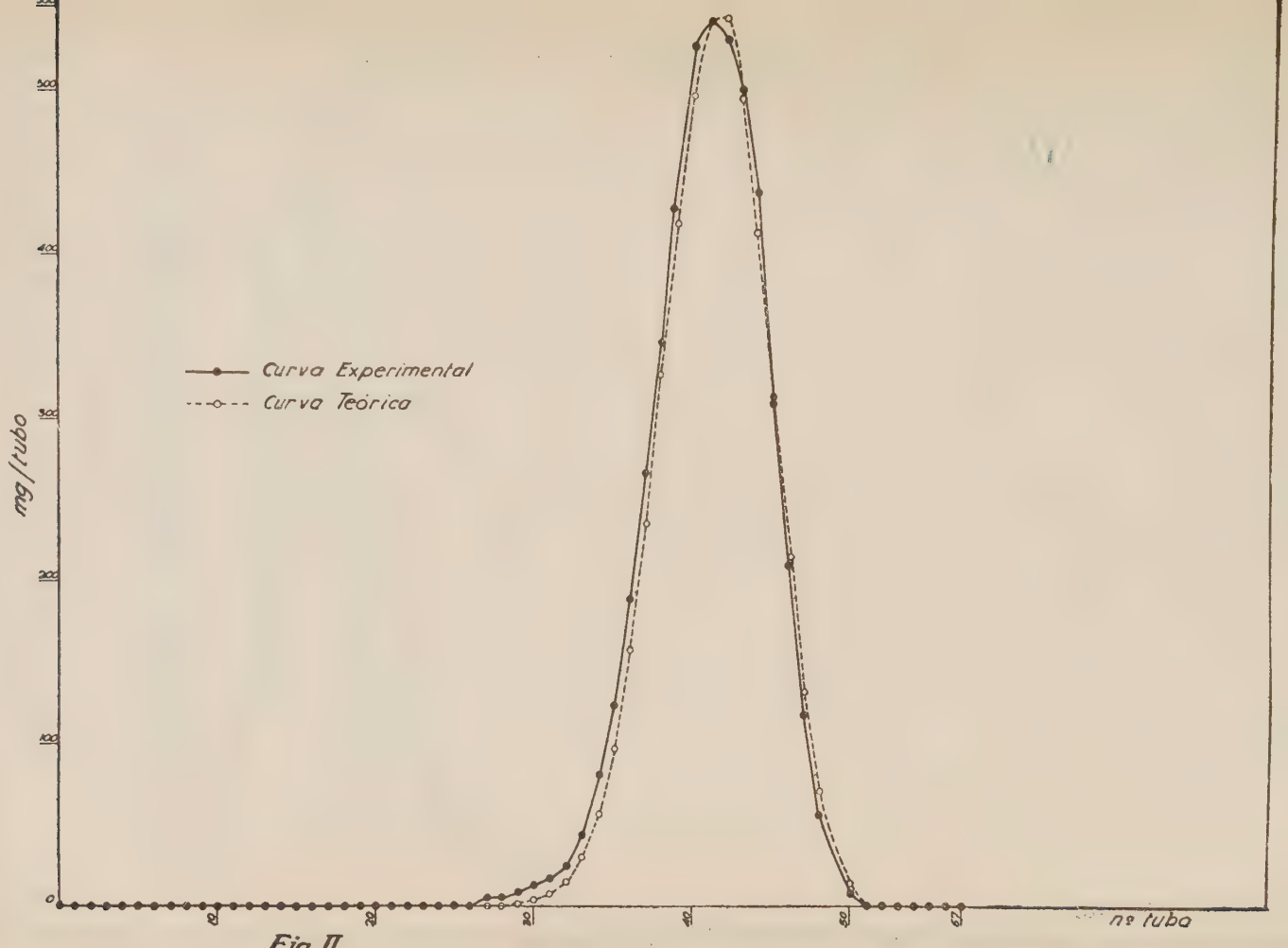


Fig. II

Distribuição contra-corrente da substância purificada

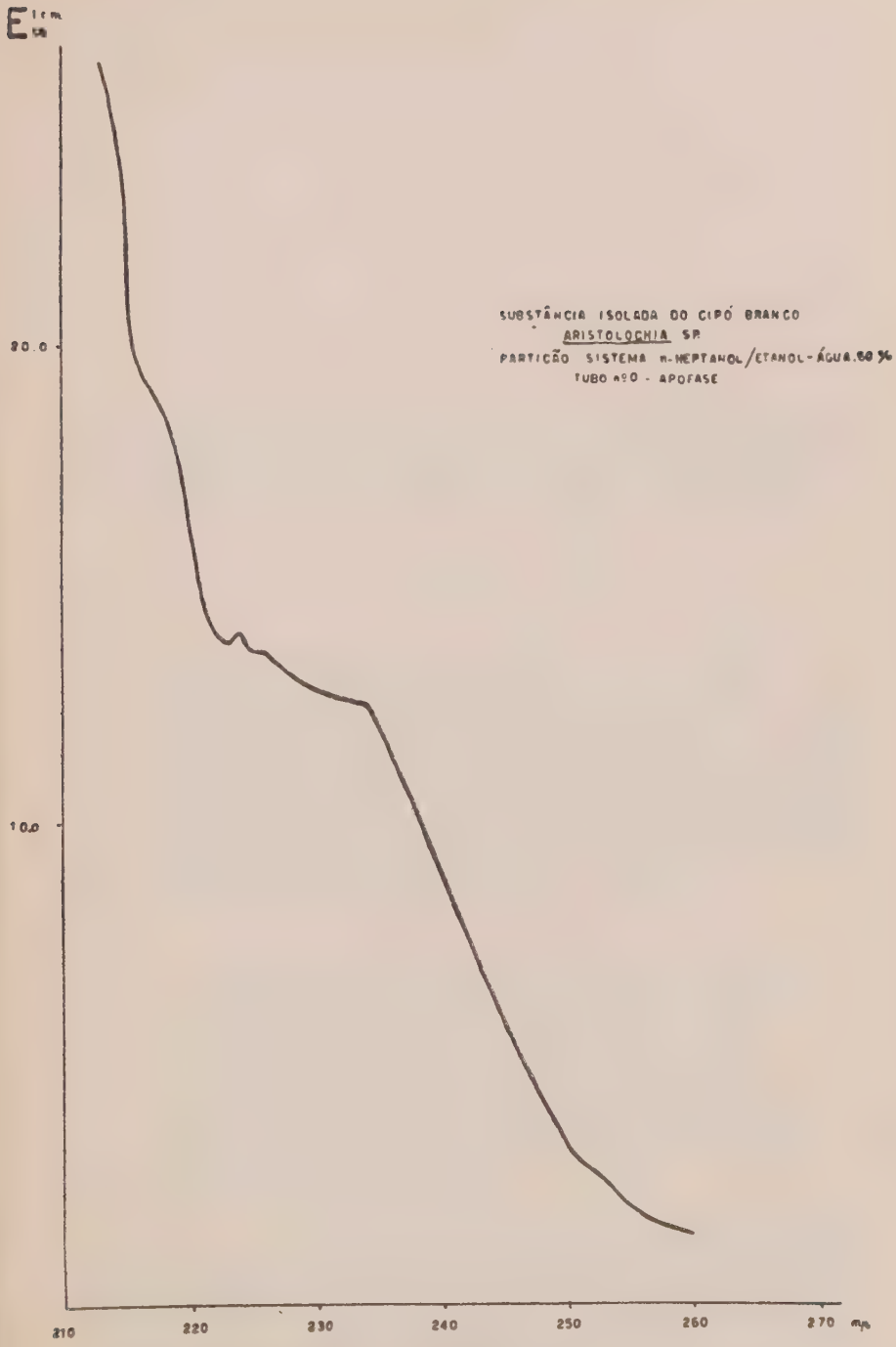


Fig. III
Espectro de absorção em etanol da substância purificada
Espectrofotômetro Beckman DU

SÔBRE UMA INTERESSANTE E POUCO CONHECIDA PUBLICAÇÃO DE PAUL LINDNER ACÊRCA DO EMPRÊGO TERAPÊUTICO DE *ZYMOMONAS MOBILIS* KLUYVER E VAN NIEL, 1936 (*PSEUDOMONAS LINDNERI*)

O. Gonçalves de Lima

Conforme já tivemos oportunidade de assinalar em outras ocasiões [1, 2], foi o isolamento da *Zymomonas mobilis* em 1924, no México, um fato que mereceu de Paul Lindner um especial carinho, ficando patente seu entusiasmo pelo descobrimento de tal microorganismo com tão singulares característicos pelo que escreveu não sòmente na Revista Mexicana de Biologia [3], em 1926, como principalmente pelo que deixou em uma comunicação (hoje rara) denominada "Gaerungssphinx und Kobold Alkohol" em 1928, na qual assinala que

> "o mundo microbiano abriga tantas fôrças misteriosas que valeria a pena investigá-lo mais do que até agora. Quem, p. ex., teria por exeqüível que pudéssemos nós descobrir um Bacterium capaz de produzir, simultâneamente, fermentação alcoólica e lática. Eu pude conseguir um tal microorganismo do "aguamiel" de Agave mexicana, depois de meses de esforços, e trazê-lo depois para a Europa" [4].

O trabalho intenso e perseverante de Lindner até chegar ao isolamento da *Zymomonas mobilis*, que êle então classificou como *Termobacterium mobile*, é descrito com algum detalhe em sua obra fundamental, denominada "Mikroskopische und biologische Betriebskontrolle in den Gaerungs-

gewerben", à página 587. Ali se narra como no fim do mês de abril de 1924 foi transportado para o pátio do Laboratório Industrial Experimental, um "maguey" (*Agave sp*) de oito anos de idade, para que o investigador pudesse cômodamente "dispor diàriamente de 3 a 4 litros de seiva fresca (aguamiel)".

Assim, pôde Lindner utilizar amostras de "aguamiel" em condições muito convenientes a um trabalho de investigação da natureza em que êle era um mestre em realizar, no surpreender aspectos ecológicos de espécies integradas em determinados processos de fermentação.

A ocorrência freqüente de uma bactéria móvel na seiva fresca de "maguey" ("In diesen Proben fand sich jetzt haeufig ein bewegliches Bakterium"....) (*loc. cit.*), fêz atribuir-lhe um destacado papel na fermentação "natural" do pulque, buscando isolá-la pelos métodos comuns sem que lograsse êxito, pelo que decidiu orientar seus ensaios sôbre a influência de ácido e de base na microflora, observando que um "aguamiel" que havia acidificado com ácido tartárico (1 ml de sol. de ácido a 10%, em 50 ml de seiva), apresentava no dia seguinte uma forte fermentação que mal poderia ser provocada pelas poucas células de levedura presentes ("Beim Versetzen von 50 ccm frischen Aguamiels mit 10%iger Weinsaeure ergab sich am folgenden Tage eine ziemlich kraeftige Gaerung, die kaum auf vereinzelt nachweisbare Hefezellen zurückgeführt werden könnte"). O líquido em fermentação estava intensamente povoado daquela bactéria móvel, cuja aparência lhe lembrou *Termobacterium*, e à qual êle atribuíu a propriedade fermentante. ("So dass diese als Gaerungsbakterie angesprochen werden konnte").

É interessante a maneira simples como Lindner escreveu seus ensaios, observações e renovados esforços para isolar a *Zymomonas*, além dos repetidos fracassos e dificuldades com que houve de lutar.

Parece que o isolamento daquela bactéria houvera tardado muito, fôsse por passar despercebida sua existência, ou pelo caráter fastidioso de seu cultivo nos meios sólidos, o que tanto óbice opôs à sua purificação, se não fôra pelo empenho posto por um idealista em um problema que a tantos se afiguram — na época e no ambiente em que atuou — provàvelmente, pura fantasia e inútil esfôrço.

Atentemos no que escreveu sôbre as dificuldades de isolamento:

"A repetida observação de que o *Termobacterium mobile* pela semeadura de poucas células em cultivo de gotículas, apesar de sua viva mobilidade não atingia uma multiplicação vigorosa, — não sendo possível a determinação da temperatura ótima por falta de um termostato — levou-me a supôr como causa do fracasso uma ação desfavorável do excesso de ar oferecido pela cavidade da lâmina porta-objeto. Não se podia pensar em adipose como no caso das leveduras, porque a imagem microscópica não deixava perceber no bactério quaisquer granulações. Para reduzir a tensão do exigênio nas gotículas, misturei-as, mais tarde, com algo de cerveja esterilizada, ainda rica de dióxido de carbono. A mescla com as gotículas já depositadas se realiza fàcilmente com a pena de desenhar."

"Então logrei um sucesso. A multiplicação foi consideràvelmente aumentada e pela transferência do cultivo em gotículas iam na semeadura cada vez mais indivíduos. Assim foi, por exemplo, na realização de uma pequena prova de fermentação com "aguamiel" ou môsto de cerveja esterilizado, quando a exclusão do ar era o que facilitava a vigorosa multiplicação".

"A adição de cerveja pasteurizada tinha assim feito do cultivo em gotícula um cultivo mais anaeróbio".

É, assim, evidente que Lindner dedicou boa parte dos seus esforços de investigação no México, às tentativas de isolamento da *Zymomonas*, interêsse que o seu comportamento como agente de fermentação lhe despertou. É o que se depreende de suas palavras, ao encerrar o minucioso relato de suas aventuras de microbiologista na mesa central mexicana, ao escrever:

"Eu expus aqui um pouco mais pormenorizadamente a história dêste descobrimento de *Termobacterium mobile*, porque sou da opinião de que esta bactéria será tomada em consideração ainda muitas vêzes tanto na prática

como na pesquisa do problema da fermentação" [5].

Os fatos posteriores, como os trabalhos de Kluyver e Hoppenbrouwers [6], Schreder [7] e tantos outros, e os recentes estudos de Gibbs e De Moss [8, 9, 10] parecem justificar aquela apaixonada convicção de Lindner, sendo mesmo provável que no futuro outros eventos venham a reafirmá-la.

Regressando à Europa com o que de mais interessante pôde colher da adorável terra mexicana — a sua bactéria singular, como havia de chamá-la depois Kluyver (Ein merkwürdiges Gaerungsbakterium) — passou a buscar-lhe a "ação curadora do aguamiel" (die Heilwirkung des Aguamiel). É o que nos informa Maurizio [11] em sua "História das Bebidas Fermentadas", ao referir que

> "logo que Lindner verificou que seu TM (*Termobacterium mobile*) medrava bem em seiva de cana-de-açúcar, em decoctos de chá-da-Índia, de mate e nos mingaus de cereal tostado, convenceu-se de que o TM é e sempre foi o mais importante agente de fermentação dos trópicos e que os hinos ao soma, a dizer a verdade, deviam valer para esta bactéria". "É que, a ação curativa do Aguamiel consiste portanto em que êle — igual que kumiss, o leitelho e o kwass — modifica a flora intestinal, não deixando surgir a flora putrefativa".

É certo que o TM foi usado com sucesso em clínicas vienenses, antes de 1933, na cura de dispepsia putrefativa e enfermidades com ela relacionadas. (Maurizio, loc. cit.).

Em 1939 apareceu no "Zeitschrift für Spiritus Industrie" (LXII, Nr 48, 338) uma simples comunicação de Lindner acêrca da ação curativa do TM, intitulada "Para o combate da brucelose no homem e nos animais" ("Zur Bekaempfung der Bangkrankheit bei Mensch und Tier") [12].

Trata-se de um documento curioso, em que se recomenda o emprêgo terapêutico de um microorganismo cuja capacidade antagonista foi posteriormente por nós demonstrada. (Congresso Científico Mexicano, comemorativo do IV.º Centenário da Universidade Nacional Autônoma do México, 1951).

Na maneira simples e corajosa de declarar as suas con-

vicções e relatar as suas experiências, diz Lindner naquela comunicação:

"Embora eu esteja completamente afastado da profissão médica, quero dizer algo sôbre êste tema, e assim o faço pela convicção de que é justo o princípio por mim defendido de que a fermentação é o meio mais simples de combate a putrefação. O descobrimento de um agente provocador de uma fermentação extraordinàriamente forte obriga-nos a empregá-lo e experimentá-lo sempre que possível".

"Isto já ocorreu abundantemente em as clínicas autríacas, em diversas enfermidades, especialmente em doenças intestinais e em supurações, por meio da administração de suspensões espêssas ou líquidos nutritivos fermentados com o citado agente de fermentação".

"Convencido de que o *Termobacterium*, abreviadamente chamado TM, é completamente inofensivo, arrisquei-me calmamente a um suicídio biológico (habe ich ruhig einen biologischen Selbstsmord riskiert), quando ingeri na presença de meus colaboradores, o conteúdo de uma colher de sôpa constituído pela massa centrifugada do TM. Os bilhões de células do TM em ativa mobilidade não me causaram o menor dano".

"Em outra oportunidade, curei-me em poucos dias de um furúnculo fortemente supurado, por meio de um tufo de algodão embebido em solução sacarina em fermentação provocada pelo TM".

"Em uma grande fazenda da Alta Silésia, na qual eu havia realizado uma silagem de trêvo, ervilhaca e grama, usando TM, sararam os pés dos ordenhadores depois que os mesmos entraram em contacto com o silo de TM".

"Meus colaboradores autorizados e muito versados em assuntos agrícolas, o casal Dr. Hendrick e Irene Maal, em Birsfelden, Baselland, os quais também guardavam cuidadosamente os cultivos puros de TM, utilizaram naturalmente também qualquer oportunidade

para empregar a bactéria sob contrôle médico e veterinário, em adequada modificação do processo, em enfermidades renais, supurações ósseas, estomatite e finalmente na febre aftosa e na brucelose". "Os resultados foram inesperadamente esplêndidos"....

Realmente, as nossas próprias observações, num período de oito anos, confirmaram as entusiastas palavras de Lindner.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1) GONÇALVES DE LIMA, O., C. LARIOS e E. AZCARATE — Aislamiento y estudio de nuevas cepas de *Pseudomonas lindneri* Kl., en aguamieles de la meseta Central Mexicana. **Ciencia** X. 10-12; 273-277. 1951.

2) GONÇALVES DE LIMA, O. — El maguey y el Pulque en los Códices Mexicanos. **Fondo de Cultura Economica**. 17-19. 1956.

3) LINDNER, P. — La importancia práctica y cientifica del estudio del Pulque. **Rev. Mex. Biol.** VI: 221-224, 1926.

4) LINDNER, P. — Gaerungssphinx und Kobold Alkohol. Neue Erkenntnisse über Gaerung, Atmung und Stoffwechsel. **Wochenschr. f. Brauerei**, XI (12): 2, (Sonderdr.), 1928.

5) LINDNER, P., Mikroskopische und biologische Betriebskontrolle in den Gaerungsgewerben. 6. Aufl. Berlin, 587-593, 1930.

6) KLUYVER, A. J. und W. J. HOPPENBROUWERS — Ein merkwürdiges Gaerungsbakterium. Lindner's *Termobacterium mobile*. Archiv. Mikrobiol., II: 245-260, 1931.

7) SCHREDER, K., R. BRUNNER und R. HAMPE. — *Pseudomonas lindneri* Kl. (*T. mobile* Ld.). Seine aerobe und anaerobe Gârung mit besonderer Berücksishtigung seiner Alkoholbildung. **Wochenschr. f. Brauerei**, L (6): 43-48.

8) GIBBS, M. e R. D. DE MOSS. — Ethanol formation in *Pseudomonas lindneri*. *Arch. Biochem. & Biophys.* 34: 478-479, 1951.

9) ———— e ————. Anaerobic Dissimilation of C^{14} labeled Glucose and Fructose by *Pseudomonas lindneri*. *J. Biol. Chem.*, 207: 689-694, 1954.

10) DE MOSS, R. D. e M. GIBBS. — Mechanisms of Ethanol Formation by *Pseudomonas lindneri*. *Bacteriol. Proc.*, 146, 1952.

11) MAURIZIO, A. — Geschichte der Gegorenen Getraenke, 99, 1933.

12) LINDNER, P. — Zur Bekaempfung der Bangkrankheits bei Mench und Tier. Zeitsch f. Spirit. Ind. LXII Nr 48: 338, 1939.

PRIMEIRAS OBSERVAÇÕES SÔBRE UM ANTIBIÓTICO COM PROPRIEDADES DE INDICADOR ÁCIDO-BÁSICO ISOLADO DE *CNIDOSCOLUS URENS* — *EUPHORBIACEÆ*

Evans Silva
O. Gonçalves de Lima
Mariza Machado de Albuquerque

No decurso de nossas investigações sôbre a ocorrência de substâncias antitumorais nas plantas superiores, constatámos a ação bacteriostática de extrato etanólico e aquoso de raízes do arbusto denominado vulgarmente "Urtiga Branca" ou Cansanção, identificado como *Cnidoscolus urens* (L) Arthur, a qual vem sendo usada pelo povo do nordeste no tratamento das neoplasias malignas.

O germen de prova utilizado para localização na raiz e para purificação da substância foi o *St. aureus* ATCC 10390.

A substância antimicrobiana localiza-se na cortex das raízes e se apresenta com propriedades de indicador ácido-básico. (Viragem de amarelo para vermelho púrpura entre pH 6,0 e 7,0).

Os testes de identificação preliminares sôbre a substância parcialmente purificada enquadram-na entre as flavonas, particularmente chalconas, auronas e benzalcumaronas.

ISOLAMENTO E PROPRIEDADES

As raspas da cortex das raízes são tratadas depois de sêcas, por benzeno até exaustão. O extrato benzênico de coloração amarelada é levado à secura em vácuo e é em seguida tratado com etanol o qual dissolve parte do resí-

duo, tomando coloração amarela, rejeitando-se por inativo um material insolúvel abundante. Ao resíduo da evaporação do extrato alcoólico se adiciona água alcalinizada, aparecendo um precipitado esbranquiçado, enquanto o líquido toma coloração vermelho púrpura. O filtrato ativo é acidificado com HCl, com viragem da coloração ao amarelo e turvação por saturação. Procede-se, então, a uma extração com benzeno. O resíduo da evaporação da fase benzênica é uma substância de côr amarelo-salmon, odor "sui-generis", aspecto e consistência graxa, pouco solúvel em água a frio, bastante solúvel nos solventes orgânicos mais usuais e regularmente solúvel em água alcalinizada.

A atividade do produto assim obtido é medíocre, conforme se observa no Quadro I. Mostrou-se inativo até 100 μg/ml tanto contra os germes Gram-negativos (com exceção das espécies do gênero Brucella) e contra os fungos leveduriformes (*Candida spp* e *Cryptococcus neoformans*).

QUADRO I

Concentrações mínimas de inibição (μg/ml) da substância bruta

Microorganismo	μ g/ml
Bacillus subtilis 9	90
Bacillus anthracis	25
Staphylococcus aureus W	25
Staphylococcus aureus A. T. C. C.	50
Streptococcus pyogenes	> 100
Neisseria catharralis	50
Mycobacterium tuberculosis	70
Mycobacterium phlei	50
Mycobacterium smegmatis	> 100
Nocardia asteroides	25
Brucella melitensis	30
Brucella suis	70

PURIFICAÇÃO

A substância bruta foi parcialmente purificada através de uma partição em nove funis separadores, usando-se

o sistema n-butanol:sol.0,1M fosfato monopotássico (pH 10,0).

Após a operação, o conteúdo de cada funil foi acidificado até pH 1,5, recolhendo-se as apofases depois de prévia agitação. Os resíduos de cada elemento foram testados contra *Staphylococcus aureus* W apresentando um cume de atividade correspondente ao funil n.º 7, cujo espectro antimicrobiano é visto no Quadro II.

QUADRO II

Concentrações mínimas de inibição (μg/ml) da substância parcialmente purificada (partição)

Microorganismo	μg/ml
Bacillus subtilis 9	63,0
Bacillus anthracis	17,5
Staphylococcus aureus W	17,5
Staphylococcus aureus A. T. C. C.	35,0
Neisseria catharralis	35,0
Mycobacterium tuberculosis	49,0
Mycobacterium phlei	35,0
Nocardia asteroides	17,5
Brucella melitensis	21,0
Brucella suis	49,0

TOXIDEZ

As provas de toxidez em camundongos suiços albinos foram realizadas com a substância em suspensão em água com Tween 80, não se observando efeitos nocivos imediatos ou tardios, nas doses administradas.

Nas provas em ratos foi empregada a cêpa Sprague Dawley, utilizando-se a substância dissolvida em carbonato di-etílico.

Os ratos que receberam 500 mg/Kg apresentaram hematuria e perda de exsudato pela uretra antes de 24 horas, sintomas êstes que persistiram por mais 24 horas, seguindo-se de recuperação total por parte de todos os animais. (Quadro III).

QUADRO III

Toxidez em camundongos e ratos

Animal	Dose única mg/Kg	Via	N. Total de Animais	Sobreviventes/Mortos
Camundongo	184	Subcutânea	5	5/0
"	364	"	5	5/0
Rato	100	"	5	5/0
"	200	"	5	5/0
"	500	"	5	5/0

O exame histológico do referido exsudato foi realizado pelo prof. Aluisio Bezerra Coutinho, Catedrático de Patologia da Faculdade de Medicina da Universidade do Recife, a quem expressamos os nossos agradecimentos.

O laudo histológico indicou ser o material constituído por uma substância corável pela eosina, ora sob a forma de massas amorfas uniformes, ora sob aspecto de rêde de fibras anastomóticas, ou de espuma coagulada retendo em alguns trechos células epiteliais alteradas por necrose mais ou menos adiantada, ou coágulos sanguíneos, tão ricos em hematias quanto em fibrina.

AÇÃO ANTICÂNCER

O antibiótico foi administrado diàriamente na dose de 50 mg/Kg de pêso por via oral, durante 15 dias a 10 ratos da cêpa referida, implantados subcutâneamente com fragmentos de 1 a 2 mm de tamanho, de carcino-sarcoma de Walker 256.

Os diâmetros tumorais dos animais tratados ao fim de 15 dias não demonstraram diferenças estatìsticamente significativas quando comparados com os diâmetros tumorais dos animais testemunhas.

Não conseguimos outrossim encontrar vestígio da substância nas fezes e urina dos animais tratados, parecendo-nos, pois, que a substância é totalmente metabolizada.

RESUMO

Os autores apresentam os primeiros resultados químicos e biológicos obtidos com uma substância de caráter flavonóide e atividade antibiótica, isolada da cortex de *CNIDOSCOLUS URENS* (L) (*EUPHORBIACEÆ*).

A substância demonstrou-se inativa por via oral na dose diária de 50 mg/Kg em ratos Sprague Dawley implantados com carcino-sarcoma de Walker 256.

Estudos mais acurados de natureza química e biológica encontram-se em andamento.

SUMMARY

Here presented are the first results of the chemical and biological study of a flavonoid substance isolated from the cortex of *CNIDOSCOLUS URENS* (L) Arthur (*EUPHORBIACEÆ*). This substance of weak antibiotic activity, proved inactive in oral administration of a daily dose of 50 mg/Kg to Walker Carcinosarcoma 256 that had previously been implanted into Sprague Dawley rats.

Further studies on the chemical and biological nature of the antibiotic are now in progress.

ZUSAMMENFASSUNG

Die Verfasser legen die ersten chemischen und biologischen Ergebnisse vor, die sie mit einer Substanz Flavonaehnlichen Charakters und antibiotischer Wirkung erhielten. Genannte Substanz wurde aus der Oberhaut der Wurzeln der *CNIDOSCOLUS URENS* (L) Arthur (*EUPHORBIACEÆ*) isoliert.

Bei weissen Ratten der Rasse Sprague Dawley, welchen das Karzinom-Sarkom Walker 256 ueberinpft wurde, zeigte sich die Substanz inaktiv bei einer taeglichen Dosis und muendlicher Verabreichung von 50 mg/kg Lebendgewicht.

Eingehende Studien chemischer und biologischer Natur sind im Fortschritt begriffen.

DA AÇÃO DA GLUCUROLACTONA E DO GLUCURONATO DE SÓDIO NO DESENVOLVIMENTO DO CARCINO-SARCOMA DE WALKER 256 (*)

"NOTA PRÉVIA"

Evans Silva
Karline Pinto
Ednaldo Fontes

Maizin, Pourbaix e van de Voorde reportaram em 1939 a ação efetiva do glucuronato de sódio em doses de 0,1 mg aplicadas semanalmente e 0,2 mg em dias alternados na redução da incidência do câncer da pele induzido em camundongos pelo 3,4 benzopireno. (1)

Wright e Deichmann em 1955, repetindo o experimento utilizando porém a glucurolactona em doses variando entre 0,12 e 2,5 mg | camundongo, chegaram à conclusão de que a mesma não reduz a freqüência dos carcinomas induzidos pelo 3,4 benzopireno. (2)

Um dos autores em 1954 reportou em "nota prévia" uma ação inibitória marcada do glucuronato de sódio sôbre um endotelioma transplantável quando administrado em doses maciças (8g/Kg/24h) com 6 horas de intervalo e dissolvido em veículo comercial de absorção lenta, visando obter níveis sanguíneos elevados e contínuos. (3).

A presente "nota prévia" relata os resultados obtidos sôbre o Carcino-sarcoma de Walker 256 com a administração de doses maciças de glucuronato de sódio e glucuro-

---

(*) Trabalho apresentado à Sociedade de Biologia de Pernambuco, sessão de 27 de novembro de 1958.

Ils suggerent encore l'importance de l'entretien de niveaux sanguins hauts et continus des chimiothérapiques au traitement du cancer.

ZUSAMMENFASSUNG

Die Verf. berichten ueber die statistisch bedeutend hemmende Aktion des Glucuronsaeurelactons auf die Entwicklung des Karzinom-Sarkoms Walker 256, wenn es subkutan in Dosen von 2g/kg jede 6 Stunden verabreicht wird. Das Loesungsmittel ist so gewaehlt, dass eine langsame Aufnahme waehrend 10 Tagen stattfindet und man einen hohen und dauernden Blutspiegel erreicht.

Es wird auch ueber die Unwirksamkeit des Natriumsalzes der Glucuronsaeure berichtet, wenn es unter deselben Bedingungen wie vorher beim Glucuronsaeurelacton verabreicht wird, desgleichen wenn die Verabreichung des Natriumsalzes der Glucuronsaeure mit derselben Dosis aber in waessriger Loesung erfolgt.

Die Verf. betonen auch die Wichtigkeit eines dauernden und hoeheren Blutspiegels der Chemotherapeutika bei der Krebsbehandlung.

BIBLIOGRAFIA

(1.) Maisin, J., Pourbaix, Y., van de Voorde, C.: Comp. Rend. Soc. Biol. 132: 86-87, 1939.

(2.) Wright W. A., Deichmann B. W., Cancer Research. Supplement n.º 2, 365, 1955.

(3.) Silva, E., Rev. Med. Cirg. S. Paulo. Vol. XIV. n.º 9, 35-40, 1954.

(4.) Tarnowski S. G. e Stock C. C., Cancer Research. 10: 1033-1039, 1957.

O Instituto de Antibióticos — órgão anexo à Escola Superior de Química da Universidade do Recife — foi fundado pelo Conselho Universitário, em sessão de 8 de março de 1952, por proposta do então Diretor daquela Escola.

Êste periódico é dirigido pelo **Instituto de Antibióticos** e publicado pela Imprensa da Universidade do Recife (Brasil), destinando-se especialmente à divulgação dos resultados das atividades científicas do mencionado instituto.

Anteriormente à sua criação, a maioria de tais resultados vinha sendo publicada nos **Anais da Sociedade de Biologia de Pernambuco.**

Merecerá sempre a melhor acolhida tôda colaboração de interêsse científico e enquadrada em a natureza desta revista, oferecida por investigadores — nacionais ou estrangeiros — que desejem utilizá-la como veículo de divulgação de seus trabalhos no campo dos antibióticos.

Qualquer correspondência poderá ser expedida para o seguinte endereço:

Revista do Instituto de Antibióticos
Cidade Universitária
Recife — BRASIL

Comissão de Redação: Oswaldo Gonçalves de Lima
José Otamar Falcão de Morais
Maria Helena D. Maia

Diretor do Instituto de Antibióticos:

Prof. Oswaldo Gonçalves de Lima

Reitor da Universidade do Recife:

Prof. Joaquim Inácio de Almeida Amazonas

Trabalhos anteriormente publicados pelo Instituto de Antibióticos:

N.º 1. (Revista de Química Industrial, N.º 249, Rio de Janeiro, 1953). Biflorina, novo antibiótico isolado da **Capraria biflora** (**Scrophulariaceae**). Por Oswaldo Gonçalves de Lima, Ivan Leôncio d'Albuquerque, Paulo Loureiro, Carlos Larios Carmona & Mario Zapata Bènard.

N.º 2. (ANAIS da Sociedade de Biologia de Pernambuco, Tomo XI, N.º 1, Universidade do Recife, 1953). Novas observações sôbre a Biflorina — antibiótico isolado da **Capraria biflora** L. (Scrophulariaceae). Por Oswaldo Gonçalves de Lima, Ivan Leôncio d'Albuquerque e Paulo Loureiro.

N.º 3. (ANAIS Soc. Biol. Pernambuco, Tomo XI, N.º 1, Univ. Recife, 1953). Estudo de um **Streptomyces sp.** (Cêpa K-7, do Instituto de Antibióticos) ativo contra **Mycobacterium spp.** e **Escherichia coli** R. Por Mario Zapata Bènard, Oswaldo Gonçalves de Lima, José Otamar Falcão de Morais, Luiz de Albuquerque Araújo e Carlos Larios Carmona.

N.º 4. (ANAIS Soc. Biol. Pernambuco, Tomo XI, N.º 1, Univ. Recife, 1953). Isolamento e estudos preliminares de uma substância antibiótica

produzida por um **Streptomyces sp.** (Cêpa K-7 do Inst. Antib. Univ. Recife). Por Oswaldo Gonçalves de Lima, José Otamar Falcão de Morais, Mario Zapata Bènard e Luiz de Albuquerque Araújo.

N.º 5. (ANAIS Soc. Biol. Pernambuco, Tomo XII, N.º 1, Univ. Recife, 1954). Estudo sumário de um **Streptomyces** (cêpa 7K1 do Inst. de Antib. Univ. Recife). Por Oswaldo Gonçalves de Lima, Luiz de Albuquerque Araújo, José Otamar Falcão de Morais, Marisa Pinheiro Machado e Carlos Larios Carmona.

N.º 6. (ANAIS Soc. Biol. Pernambuco, Tomo XII, N.º 1, Univ. Recife, 1954). Estudo sôbre a Eurimicina, antibiótico produzido pelo **Streptomyces sp.** (cêpa 7K1 do Inst. Antib. Univ. Recife). Por Oswaldo Gonçalves de Lima, Luiz de Albuquerque Araújo, José Otamar Falcão de Morais, Marisa Pinheiro Machado, Antônio Andrade e João Wanderley de Siqueira Neto.

N.º 7. (ANAIS Soc. Biol. Pernambuco, Tomo XII, N.º 1, Univ. Recife, 1954). Alamandina, novo antibiótico ativo contra protozoários, isolado de **Allamanda violacea** (**Apocynaceae**). Por Oswaldo Gonçalves de Lima e José Moreira Caldas.

N.º 8. (ANAIS Soc. Biol. Pernambuco, Tomo XII, N.º 1, Univ. Recife, 1954). Selovicina, novo antibiótico isolado de **Croton sellowii** Bail. Por Oswaldo Gonçalves de Lima, Ivan Leôncio d'Albuquerque, Paulo Loureiro, Luiz de Albuquerque Araújo e Antônio Andrade.

N.º 9. (ANAIS Soc. Biol. Pernambuco, Tomo XII, N.º 1, Univ. Recife, 1954). Observações preliminares sôbre um antibiótico produzido por um **Streptomyces** (cêpa A-24 do Inst. Antib. Univ. Recife). Por Oswaldo Gonçalves de Lima, Paulo Loureiro e José Otamar Falcão de Morais.

N.º 10. (ANAIS Soc. Biol. Pernambuco, Tomo XIII, N.º 1, Univ. Recife, 1955). Primeiras observações sôbre a ação antibacteriana de extratos de amêndoas de **Virola gardneri**. Por Oswaldo Gonçalves de Lima, I. L. d'Albuquerque, A. Andrade, M. Pinheiro Machado, J. O. Falcão de Morais, G. Pereira Pinto e P. Loureiro.

N.º 11. (ANAIS Soc. Biol. Pernambuco, Tomo XIII, N.º 1, Univ. Recife, 1955). Nova espécie do gênero **Acetobacter**: **A. lermae**. Por Oswaldo Gonçalves de Lima, J. O. Falcão de Morais e C. L. Carmona.

N.º 12. (ANAIS Soc. Biol. Pernambuco, Tomo XIII, N.º 1, Univ. Recife, 1955). Nova espécie do gênero **Nocardia**: **N. recifei**, sua atividade antagonista. Antibiótico Produzido. Por Oswaldo Gonçalves de Lima, M. Pinheiro Machado, L. de Albuquerque Araújo, J. O. Falcão de Morais e H. Biermann.

N.º 13. (ANAIS Soc. Biol. Pernambuco, Tomo XIII, N.º 2, Univ. Recife, 1955). Primeiras observações sôbre um antibiótico do grupo da estreptotricina. Por Oswaldo Gonçalves de Lima, Marisa Pinheiro Machado, José Otamar Falcão de Morais, Hans Biermann, Evans Silva e Antônio Andrade.

N.º 14. (ANAIS Soc. Biol. Pernambuco, Tomo XIII, N.º 2, Univ. Recife, 1955). Breve nota sôbre a atividade antibiótica de amostras de raízes de **Aristolochia foetida**, após longo estágio em herbário. Por Oswaldo Gonçalves de Lima e Marisa Pinheiro Machado.

N.º 15. (ANAIS Soc. Biol. Pernambuco, Tomo XIII, N.º 2, Univ. Recife, 1955). Primeiras observações sôbre dois antibióticos de espectro restrito, produzidos por **Streptomyces sp.** (cêpa A116 IAUR). Por Oswaldo Gonçalves de Lima, Marisa Pinheiro Machado, Gerson Pereira Pinto, José Otamar Falcão de Morais e Hans Biermann.

N.º 16. (ANAIS Soc. Biol. Pernambuco, Tomo XIV, Ns. 1-2, Univ. Recife, 1956). Uma cêpa de **Streptomyces californicus** (Waksman e Curtis) Waksman e Henrici (1) produtora de um corante antibiótico, indicador ácido-básico. Por José Otamar Falcão de Morais, Oswaldo Gonçalves de Lima, Marisa Pinheiro Machado, Maria H. Dália Maia e Luiz de Albuquerque Araújo.

N.º 17. (ANAIS Soc. Biol. Pernambuco, Tomo XIV, Ns. 1-2, Univ. Recife, 1956). **Streptomyces** A20 (IAUR) — produtor de um antibiótico do grupo de estreptotricina — identificado como **S. cinnamonensis**. Por José Otamar Falcão Morais, Oswaldo Gonçalves de Lima e Maria H. Dália Maia.

N.º 18. (ANAIS Soc. Biol. Pernambuco, Tomo XIV, Ns. 1-2, Univ. Recife, 1956). O **Streptomyces** produtor do antibiótico eurimicina — cêpa 7K1 do IAUR — identificado como **S. lavendulae**. Ligeiro estudo crítico sôbre algumas espécies do grupo do **S. lavendulae**. Por Oswaldo Gonçalves de Lima, José Otamar Falcão de Morais, Maria H. Dália Maia e Maria Glauce Maciel.

N.º 19. (ANAIS Soc. Biol. Pernambuco, Tomo XIV, Ns. 1-2, Univ. Recife, 1956). Primeiras observações sôbre a ação antimicrobiana do Lapachol. Por Oswaldo Gonçalves de Lima, Ivan Leôncio d'Albuquerque, Marisa Pinheiro Machado, Evans Silva e Gerson Pereira Pinto.

N.º 20. (ANAIS Soc. Biol. Pernambuco, Tomo XIV, Ns. 1-2, Univ. Recife, 1956). Uma nova substância antibiótica isolada do "Pau d'arco", **Tabebuia sp.** Oswaldo Gonçalves de Lima, Ivan Leôncio d'Albuquerque, Marisa Pinheiro Machado, Gerson Pereira Pinto e Maria Glauce Maciel.

N.º 21. (Rev. Inst. Antib. Univ. Recife, Vol. 1, N. 1, 1958). Algumas observações sôbre a ação antifúngica de um **Streptomyces sp** (cêpa 233 — IAUR) — Oswaldo Gonçalves de Lima, Marisa Pinheiro Machado, Maria Glauce Maciel, Evans Silva, Maria Helena Dália Maia.

N.º 22. (Rev. Inst. Antib. Univ. Recife, Vol. 1, N. 1, 1958). Método simples de extração e purificação da Biflorina — Oswaldo Gonçalves de Lima, Ivan Leôncio d'Albuquerque.

N.º 23. (Rev. Inst. Antib. Univ. Recife, Vol. 1, N. 1, 1958). Estudo sôbre a nutrição de **Hemispora stellata** (**Sporendonema epizoum**) — Orio Ciferri e Luiz de Albuquerque Araújo.

N.º 24. (Rev. Inst. Antib. Univ. Recife, Vol. 1, N. 1., 1958). Substâncias antimicrobianas na Canafístula (**Cassia excelsa** Schrad) I. Cassilisina, um novo alcalóide com ação antibiótica — Oswaldo Gonçalves de Lima, Ivan Leôncio d'Albuquerque, Marisa Pinheiro Machado, Gerson Pereira Pinto.

N.º 25. (Rev. Inst. Antib. Univ. Recife, Vol. 1, N. 1, 1958). Substâncias antimicrobianas na Canafístula (**Cassia excelsa** Schrad) II. Cassilisidina, um antibiótico de ação bacteriolítica — Orio Ciferri, Marisa Pinheiro Machado, Luiz de Albuquerque Araújo.

N.º 26. (Rev. Inst. Antib. Univ. Recife, Vol. 1, N. 1, 1958). Produzione de Pigmenti Flavinici da parte di un Attinomicete — Orio Ciferri, Marisa Pinheiro Machado.

N.º 27. (Rev. Inst. Antib. Univ. Recife, Vol. 1, N. 1, 1958). **Streptomyces** de amplio espectro antimicrobiano, aislados de suelos de Brasil — A. Sanchez-Marroquim.